IMUNITATE

G.Simu

ŞI CANCER

Scanned with OKEN Scanner

Dr. George Simu

IMUNITATE ȘI CANCER

EDITURA MEDICALĂ, BUCUREȘTI – 1978

Scanned with OKEN Scanner

Autorul este recunoscător profesorilor George Badenski, Ion Chirieuță și Ioan Moraru al căror exemplu, ajutor și afecțiune i-au stimulat interesul pentru imunologia tumorală.

Scanned with OKEN Scanner

PREFAȚĂ

Descoperirile senzaționale din domeniul biologiei moleculare asupra structurii acizilor nucleici sau a mecanismelor sintezei proteice lăsau impresia acum 10—15 ani că rezolvarea necunoscutei probleme a cancerului nu va întîrzia.

Timpul a arătat că speranțele nu s-au adeverit. Indiscutabil că descoperirile din domeniul biologiei moleculare au luminat multe sectoare obscure ale oncologiei, cum ar fi mecanismele oncogenezei virale, dar problema cancerului a rămas în continuare marea necunoscută.

Nu aceleași lucruri se pot spune și despre descoperirile din domeniul imunologiei, care dacă nu au avut nota senzaționalului, au reprezentat în schimb trepte solide în timp spre cunoașterea unor fenomene biologice extrem de importante pentru înțelegerea procesului canceros.

Elucidarea unor fenomene legate de imunitatea de transplant, inducerea toleranței transplantelor, moderarea reacției de rejectare, ca și studiul modificărilor imune ce apar în organism contra propriei sale tumori au permis ca oncologia să se orienteze pe un nou și foarte promițător drum.

Descoperirea unor fenomene ca facilitarea imunologică, inhibiția alogenică, acțiunea blocantă sau deblocantă, existența celulelor K, capacitatea celulelor tumorale de a fixa complexe de antigen-anticorp, posibilitatea transformării unor reacții imune patologice în limfoame maligne a aruncat o nouă lumină asupra unor domenii confuze ale oncologiei.

Astăzi există metode imunologice pentru diagnosticul unor cancere, după cum există și numeroase modele experimentale de imunoterapie sau imunoprofilaxie anticanceroasă, precum și o teorie imunogenetică asupra etiopatogenezei cancerului, acceptată de marea majoritate a specialiștilor.

Scanned with OKEN Scanner

Asupra acestui vast domeniu de cercetare s-a scris enorm, competent sau mai puțin competent, pro sau contra, uneori imaginația depășind realitatea strictă.

A selecționa acest uriaș material bibliografic, a expune critic și competent faptele bazîndu-te și pe o experiență personală, nu este o sarcină ușoară.

Considerăm că doctorul George Simu, care are avantajul unei excelente formații polivalente de biolog, imunolog, anatomo-patolog și clinician, s-a achitat meritoriu de această grea sarcină prin redactarea monografiei pe care o prezint publicului interesat. În calitate de șef al laboratorului de anatomie patologică al Institutului Oncologic Cluj-Napoca, a luat parte la observarea acestor fenomene atît în clinica umană, cît și în experimentul animalier. Un avantaj deosebit al lucrării este prezentarea clară a conceptelor ce stau la baza imunologiei generale și cu precădere la aceea a onco-imunologiei.

Pe lîngă trecerea în revistă a cercetărilor de oncologie imunologică întreprinse în marile institute de cercetare ale lumii, sînt expuse eforturile cercetătorilor români asupra acestei probleme, în special din Institutele Oncologice din București și Cluj-Napoca.

Este prima monografie de sinteză care apare în literatura științifică românească asupra acestei spinoase probleme și printre puținele din literatura mondială.

Ea va interesa cu siguranță un cerc larg de cititori, deoarece atît medicul, cît și biologul, chimistul sau medicul veterinar sînt deopotrivă de interesați în studierea imunității cancerului.

Sînt convins că lucrarea doctorului George Simu va fi un stimulent real pentru orientarea cercetării și clinicii cancerului spre un nou făgaș, mai bogat în rezultate practice decît cele oferite de vechile concepții ce au dominat oncologia în ultima jumătate de secol.

Prof. dr. Ion Chiricuță

Cluj-Napoca, 1976

Scanned with OKEN Scanner

CUPRINS

Pag.

I. RAPORTURI ÎNTRE IMUNITATE ŞI CANCER 11

A. Probleme legate de apariţia concomitentă a cancerului şi imunităţii în cursul filogenezei 13
1. Mecanismele moleculare ale supravegherii imunologice 15
2. Filogeneza imunităţii 22
3. Importanţa imunităţii în patologie 28
B. Teoria imunogenetică a etiopatogenezei cancerului 30
C. Raporturi între imunitatea antitumorală şi imunitatea de transplantare 37
1. Caracterele generale ale imunităţii de transplantare 38
2. Reacţia grefă-contra-receptor 43
3. Raporturi imune între mamă şi făt 44
4. Raporturi între antigenele HL-A şi anumite forme de tumori maligne 45
5. Aspecte particulare ale imunităţii descoperite pe sisteme tumorale 46
D. Intervenţia imunităţii în cancer 52

II. OBSERVAŢII ANATOMO-CLINICE ŞI EPIDEMIOLOGICE ASUPRA IMUNITĂŢII ANTITUMORALE 53

A. Observaţii clinice 53
B. Observaţii anatomo-patologice şi experimentale 58
1. Tumori oculte 58
2. Studii experimentale asupra reacţiei imune antitumorale 59
C. Date epidemiologice: incidenţa crescută a tumorilor maligne la persoane cu deficienţe imunologice 61
1. Imunodeficienţele primare 61
2. Imunodeficienţele secundare 66

III. ANTIGENELE TUMORALE 69

A. Generalităţi asupra antigenelor 69
B. Antigenele tumorale 72

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

1. Antigenele tumorilor virale 72
2. Antigenele tumorilor induse de factori chimici și fizici 83
3. Antigenele fetale 84
4. Alte antigene endogene 88

IV. ORGANELE LIMFOIDE ÎN ORGANISME CU CANCER 89

A. Bazele structurale ale reacției imune 89
1. Macrofagele (sistemul fagocitar mononuclear) 90
2. Limfocitele 95
3. Alte celule interesate în reacția imună 108
B. Dinamica reacției imune 109
C. Aspecte histologice și semnificații ale reacției imune antitumorale 127
1. Interstițiul tumoral 128
2. Ganglionii limfatici la pacienți cu cancer 129
3. Limfocite și macrofage din alte organe 136
D. Timusul în organisme cu cancer 137

V. REACȚII IMUNE ÎN ORGANISME CU CANCER 159

A. Aspecte ale imunității umorale în cancer 159
B. Factori umorali nespecifici în cancer 167
1. Complementul 168
2. Properdina 173
3. Interferonii 174
C. Reacții de imunitate celulară 176
1. Fenomene de imunitate celulară *in vivo* 176
2. Fenomene de imunitate celulară *in vitro* 177
D. Cauze ale ineficacității reacției antitumorale 182
1. Deprimarea imunologică a pacienților cu cancer 185
2. Alterarea capacității funcționale a celulelor participante la reacția imună 194
3. Raporturi particulare între antigen, limfocite și anticorpi în cancer 196
4. Concluzii 201

VI. ASPECTE PARTICULARE ALE IMUNITĂȚII ÎN UNELE FORME DE CANCER 202

A. Cancerul mamar 202
1. Particularități clinice 203
2. Probleme de raporturi antigenice murine/umane în cancerul mamar 204
3. Aspecte imunopatologice 207
4. Anticorpii la paciente cu cancer mamar 215
5. Implicații imunologice ale terapiei 218
B. Carcinomul de col uterin 222
C. Melanomul malign 226

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

VII. IMUNITATEA ÎN LIMFOAME MALIGNE 230

A. Aspecte generale ale imunităţii în limfoame maligne 230
1. Infecţiile 232
2. Bolile autoimune 232
3. Apariţia unui al doilea neoplasm primitiv 232
B. Aspecte particulare ale imunităţii în principalele limfoame maligne 233
1. Limfomul Hodgkin 233
2. Limfoamele nehodgkiniene 240
3. Leucemiile 243
C. Posibilitatea transformării reacţiei imune în limfom malign 243
D. Principii actuale de clasificare a limfoamelor maligne 253

VIII. APLICAŢII PRACTICE. IMUNOPROFILAXIA ŞI IMUNOTERAPIA 265

A. Clasificări histologice cu valoare prognostică 265
B. Caracterizarea imunologică a limfoamelor maligne 266
C. Stabilirea prognosticului în funcţie de modificările histologice ale ganglionilor regionali 266
D. Diagnosticul imunologic al tumorilor maligne 266
E. Imunoprofilaxia şi imunoterapia cancerului 266
1. Imunoprofilaxia cancerului 266
2. Imunoterapia cancerului 267
3. Concluzii 272

IX. BIBLIOGRAFIE 273

Scanned with OKEN Scanner

I

RAPORTURI ÎNTRE IMUNITATE ȘI CANCER

Cancerul constituie problema capitală a medicinii contemporane: descoperirea cauzelor, înțelegerea mecanismului de producere, dar mai ales descoperirea unor metode de diagnostic precoce și de tratament eficace reprezintă principala preocupare a elitei cercetătorilor din toate specialitățile medicale, ca și din ale științe interesate de studiul fenomenelor biologice (biologi, biochimiști, biofizicieni, veterinari etc.).

Deși boala nu reprezintă, chiar în țările dezvoltate, decît a doua cauză de mortalitate, după bolile cardiovasculare, faptul că la ora actuală un bărbat din cinci și o femeie din patru prezintă riscul de a se îmbolnăvi de cancer (Goldberg și colab., 1956) subliniază importanța problemei. O serie de particularități îi evidențiază gravitatea, care justifică interesul acestor cercuri largi de cercetători și îi conferă primordialitate. Spre deosebire de bolile cardiovasculare, care duc la deznodămînt fatal la o vîrstă din ce în ce mai înaintată, îmbolnăvirea de cancer reprezintă cea mai mare tragedie atît pentru bolnav, cît și pentru anturajul său. Aceasta se datorește caracterului malign al bolii și faptului că apare frecvent încă de la 40—45 de ani, producînd moartea sau incapacitatea profesională a unor persoane aflate în plină perioadă de maturitate creatoare. Tragedia devine mai dureroasă cînd boala interesează persoane mai tinere, sub 40 sau chiar sub 30 de ani (cancerul mamar, uterin, tiroidian, rinofaringian). În sfîrșit, apariția tumorilor maligne la copii de orice vîrstă (limfoame maligne, sarcoame, melanoame, tumori disembrioplazice) este una din rarele situații în care medicina contemporană apare ineficace, dezarmată.

Scanned with OKEN Scanner

Toate acestea explică faptul că lupta împotriva cancerului se duce pe scară mondială, că Uniunea Internațională Contra Cancerului reprezintă cea mai bine organizată societate medicală internațională. Așa se explică și faptul că cercetători de mare reputație în diferite specialități medicale, dar și din alte ramuri ale științei, printre care mulți laureați ai Premiul Nobel, încearcă să contribuie prin cunoștințele și experiența lor la progresul studiilor în domeniul cancerului. În acest sens, se pot aminti numele unor clasici (Warburg, Szent-Györgyi, Domagk, Burnet, Rous) sau reprezentanți contemporani (Jacob, Temin, Baltimore, Dulbecco) ai științei mondiale.

În afară de cazurile surprinse într-un stadiu incipient, pe care intervenția chirurgicală sau radioterapia le pot vindeca definitiv, în majoritatea cazurilor de boală, metodele obișnuite de tratament (chirurgicale, radiologice, medicamentoase) au o valoare paleativă, aplicarea lor fiind însoțită de multe ori de tot felul de inconveniente. Astăzi, încă nu putem trata tumorile maligne decît mutilînd, arzînd sau intoxicînd organismul bolnavilor.

Această situație a determinat căutarea unor noi metode terapeutice, mai adecvate, capabile să blocheze evoluția și să producă regresiunea tumorii maligne fără inconveniente deosebite pentru pacient. Astfel, atenția cercetătorilor s-a îndreptat asupra imunologiei.

Interesul cancerologilor pentru această ramură a științelor medicale a fost trezit de observațiile clinice, de multe ori confirmate în laborator, care sugerau intervenția în cursul bolii canceroase a unor factori cu acțiune foarte asemănătoare, dacă nu similară cu cea a imunității. Aceste observații năşteau speranța posiblității stimulării imunității organismului în scopul combaterii tumorii maligne.

Pe măsură ce studiile de imunitate tumorală au progresat, s-a văzut că această ramură a imunologiei este poate cea mai interesantă, deși cea mai complexă și cea mai dificilă; ele au permis descoperirea unor aspecte noi ale reacției imune, ca și o mai bună înțelegere a unor aspecte clasice, prin utilizarea de sisteme biologice tumorale. Pînă la urmă, ele au făcut posibilă elaborarea unei explicații raționale a condițiilor care au determinat apariția și diferențierea acestei funcții în cursul evoluției ființelor și a raporturilor care există între diferitele categorii de reacții imune. Dacă imunologia a permis, cu ajutorul geneticii, cea mai satisfăcătoare explicație a etiopatogenezei cancerului și a deschis perspective optimiste de soluții terapeutice, studiile de cancerologie experimentală au adus o contribuție importantă la progresul imunologiei. Aceasta explică atît interesul imunologilor contemporani pentru studiul cancerului, cît și interesul cancerologilor pentru imunologie.

Raportul strîns care există între imunitate și cancer rezultă însă, în primul rînd, din apariția concomitentă a celor două fenomene pe scara

Scanned with OKEN Scanner

filogenetică, studiile de imunologie facilitînd înţelegerea apariţiei cancerului, după cum studiul cancerului a permis explicarea fenomenelor care au determinat apariţia imunităţii. La aceasta se adaugă faptul, menţionat anterior, că utilizarea metodelor de cancerologie experimentală, a unor sisteme tumorale, oferă o mai bună înţelegere a unor aspecte ale reacţiei imune. Astăzi, nu se poate studia cancerul, fără a vorbi de imunitate, după cum nu se poate înţelege natura reacţiei imune, fără a vorbi şi de cancer.

A. PROBLEME LEGATE DE APARIŢIA CONCOMITENTĂ A CANCERULUI ŞI IMUNITĂŢII ÎN CURSUL FILOGENEZEI

Tumori maligne adevărate se întîlnesc cu frecvenţă progresivă odată cu apariţia şi evoluţia vertebratelor. În acelaşi timp, imunitatea propriu-zisă, caracterizată prin capacitatea organismului de a reacţiona specific şi anamnestic faţă de un anumit antigen apare, de asemenea, odată cu vertebratele şi se perfecţionează pe măsura diversificării şi diferenţierii acestor organisme.

Această coincidenţă i-a sugerat lui Thomas (1959) ideea existenţei unei legături între cele două fenomene, în sensul că, la animalele superioare, necesitatea de a rezista împotriva tumorilor maligne, care prin frecvenţa şi gravitatea lor puteau pune în pericol însăşi existenţa speciilor respective, ar fi jucat un rol important în apariţia imunităţii.

Ideea a fost preluată şi dezvoltată într-un mod foarte atrăgător de către Burnet (1967, 1970, 1971), care a integrat-o în concepţia *supravegherii imunologice* (*immunological surveillance*), adevărată teorie generală a imunităţii şi patologiei.

După acest autor, *supravegherea imunologică* este funcţia care permite animalelor superioare (vertebrate) să recunoască cu promptitudine structurile moleculare străine pătrunse sau apărute în organismul lor, producînd inactivarea, distrugerea şi eliminarea lor cît mai rapidă. Prin aceasta se asigură în primul rînd integritatea structurală şi, implicit, funcţională a unui organism, pe lîngă evitarea urmărilor nocive produse de pătrunderea diferiţilor microbi şi paraziţi.

Astfel concepută, teoria supravegherii imunologice apare ca rezultatul unei subtile operaţii de analiză şi sinteză, efectuată de Burnet cu ajutorul datelor furnizate de rezultatele lucrărilor experimentale şi a observaţiilor clinice din ultimii 20 de ani. Aceste lucrări, care se leagă de numele lui Medawar, Brent şi Billingham, Good şi Cooper, Hasek, Miller, Southam, Prehn etc., pentru a nu-i aminti decît pe cei mai importanţi, au constituit o adevărată revoluţie în imunologie, deoarece au modificat sensul şi au lărgit conţinutul noţiunii de imunitate.

Scanned with OKEN Scanner

Aceste cercetări au demonstrat natura imună a reacţiilor de respingere a transplantelor, existenţa unei reacţii imune a organismului împotriva propriei sale tumori maligne, ca şi faptul că o imunitate deranjată este responsabilă de apariţia unor boli considerate mult timp ca avînd o patogeneză obscură şi numite azi boli de autoagresiune.

S-a stabilit, de asemenea, importanţa specificităţii şi a memoriei în caracterizarea fenomenului imun, ca şi rolul esenţial al timusului, splinei şi ganglionilor limfatici în geneza şi maturarea imunităţii şi în desfăşurarea normală a fenomenelor imune. Ca urmare, macrofagele, limfocitele şi plasmocitele au apărut ca efectorii reacţiilor imune, prin intermediul unor complexe reacţii în care aceste celule intervin direct sau prin diverse substanţe secretate în urma contactului cu antigenul, dintre care cele mai importante sînt imunoglobulinele — subliniindu-se astfel caracterul dualist, celular şi umoral al unui fenomen unic. Intervenţia unor factori naturali ai rezistenţei organismului, în special a complexului complementar, în potenţarea acestor reacţii a fost de asemenea ilustrată de aceste lucrări. Posibilitatea evitării în anumite condiţii a reacţiei imune, obţinerea unei toleranţe imunologice, cu largi implicaţii practice, ca şi a potenţării, în alte condiţii, a unei reacţii insuficiente, a făcut ca imunologia să trezească interesul unor largi cercuri medicale şi să devină o preocupare majoră a medicinii contemporane.

Noţiunea clasică de imunitate, prin care se înţelege rezistenţa organismului contra infecţiilor, s-a transformat, în concepţia modernă, în capacitatea organismului de a diferenţia structurile moleculare proprii de cele străine, tolerîndu-le pe cele proprii şi eliminîndu-le, de obicei cu promptitudine, pe cele străine. Aceste structuri străine, antigenice, sînt reprezentate nu numai de microbi şi paraziţi, ci şi de celulele străine transplantate sau chiar de celulele proprii modificate, cum sînt celulele canceroase.

Sfera noţiunii de imunitate s-a lărgit astfel, pentru a include, pe lîngă imunitatea clasică antiinfecţioasă, imunitatea de transplant, imunitatea antitumorală şi bolile de autoagresiune. Astfel concepută, imunitatea apare ca una din cele mai importante, dacă nu cea mai importantă funcţie a organismelor superioare, atît pentru individ, a cărui viaţă, integritate şi individualitate le apără, cît şi pentru specie, la menţinerea stabilităţii căreia contribuie hotărîtor, alături de ereditate.

Progresele realizate în înţelegerea mecanismelor imunităţii, posibilitatea moderării sau suprimării lor în anumite condiţii explică succesele obţinute în ultimii ani în tratamentul bolilor de autoagresiune, ca şi în realizarea transplantelor de organe. Se poate spune că problema principală a medicinii contemporane, o problemă de imunologie, este cum să se suprime reacţia împotriva transplantelor, asigurîndu-se intrarea în practica zilnică a acestei metode de salvarea sau prelungirea vieţii a

Scanned with OKEN Scanner

numeroşi pacienţi şi cum să se stimuleze reacţia antitumorală aşa încît să producă în mod real şi constant vindecarea tumorilor maligne. Posibilitatea modulării funcţiei de supraveghere imunologică, în conformitate cu necesităţile, poate şi trebuie să ducă, în viitorul apropiat, la prelungirea substanţială a vieţii oamenilor.

Elaborînd teoria supravegherii imunologice, Burnet a reuşit (1) să explice imunitatea în termenii biologiei moleculare (teoria selecţiei clonale) (2), să o încadreze în procesul general al evoluţiei, explicîndu-i apariţia pe scară filogenetică, şi (3) să ofere o nouă bază pentru înţelegerea fenomenelor patologice; în felul acesta ea a devenit o adevărată teorie generală a patologiei, cu largi perspective de aplicare practică.

În toate cele trei direcţii menţionate, studiul unor sisteme tumorale a permis, în diferite împrejurări, o mai bună înţelegere a mecanismelor imunităţii, după cum progresele în imunologie au permis o mai bună înţelegere a biologiei bolii canceroase şi au generat speranţe în ceea ce priveşte descoperirea unui tratament eficient şi raţional.

1. MECANISMELE MOLECULARE ALE SUPRAVEGHERII IMUNOLOGICE
(teoria selecţiei clonale)

După ce existenţa imunităţii faţă de infecţia microbiană a fost demonstrată experimental şi prin rezultate clinice la sfîrşitul secolului trecut şi începutul secolului actual, s-a încercat explicarea mecanismelor acestui fenomen. Pentru Mecinikov (1901), acest mecanism avea un caracter pur celular, fagocitele — reprezentate de leucocitele polinucleare (microfage) sau de monocite (macrofage) — fiind capabile să înglobeze şi să distrugă atît microbii, cît şi toxinele lor. Pentru Wright (1895), în această acţiune este importantă intervenţia unor substanţe solubile din serul indivizilor normali sau bolnavi, opsoninele, care prepară microbii în vederea fagocitării, exagerînd-o şi crescîndu-i eficacitatea.

Este însă foarte interesantă explicaţia furnizată în acest sens de Ehrlich (1900), sub forma *teoriei lanţurilor laterale*, care precede teoriile selective actuale şi se bazează (ca şi la Mecinikov) pe analogia existentă între asimilarea materiilor nutritive şi anumite aspecte ale imunităţii. După Ehrlich, celulele, asemeni substanţelor aromatice, sînt formate dintr-o grupare centrală, care îndeplineşte funcţiile vitale, şi din lanţuri laterale, constituind receptori pentru diversele substanţe din mediul ambiant care nutresc celula. Aceste lanţuri laterale, sau receptori, captează substanţele nutritive în funcţie de anumite afinităţi structurale, le fixează, le degradează în sensul asimilării, eliberînd componentele inutile. În acelaşi sens, în funcţie de complementaritatea structurală, toxinele microbiene se pot fixa pe receptorii unei celule, saturîndu-i şi producînd

Scanned with OKEN Scanner

moartea celulei respective. Toxina este formată din două grupări legate între ele, una haptoforă, care se fixează de lanţul lateral al celulei, şi cealaltă toxoforă, responsabilă de acţiunea toxică asupra celulei. Saturarea de către toxine a numeroase celule din organism duce la moartea acestuia. Dimpotrivă, lipsa de potrivire structurală între haptofor şi receptorii celulari se traduce prin lipsa de susceptibilitate a organismului la toxina respectivă.

În cazul cînd saturarea receptorilor de către toxină este incompletă şi celulele supravieţuiesc, ele îşi regenerează în exces aceşti receptori, analog regenerării în exces a organelor locomotorii pierdute accidental de către animalele inferioare. Excesul de receptori este eliberat în sînge şi umori: ei constituie receptorii liberi sau antitoxinele, capabili să neutralizeze toxinele apărute din nou în organism şi responsabili deci de rezistenţa acestuia faţă de o nouă infecţie. Antitoxinele reprezintă, după Ehrlich, receptori de primul ordin. Anticorpii antimicrobieni (aglutinine, precipitine) reprezintă receptori de ordinul al doilea, produşi după acelaşi mecanism, care, pe lîngă grupul haptofor care se combină cu microbul, conţin un grup zimofor, responsabil de acţiunea de aglutinare sau precipitare. Receptorii capabili să se combine prin grupul haptofor sau citofil cu bacterii sau celule, iar prin celălalt capăt, numit complementofil, cu complementul, antrenînd liza structurilor microbiene sau celulare pe care s-au fixat, sînt consideraţi receptori de ordinul al treilea sau amboceptori (bacteriolizine, citolizine). Importanţa ipotezei lui Ehrlich constă în faptul că ea devansează, în conformitate cu cunoştinţele epocii, teoriile actuale selective ale imunităţii, subliniind mecanismul selectiv al fenomenului şi importanţa analogiilor structurale dintre antigene şi anticorpi.

Ulterior însă, lucrările lui Landsteiner (1936) au demonstrat existenţa unui număr enorm de antigene naturale sau artificiale şi a făcut astfel să pară puţin verosimilă ipoteza lui Ehrlich asupra unor receptori preformaţi, capabili să recunoască aceste antigene.

Demonstrarea naturii polipeptidice a anticorpilor şi a proprietăţii acestor proteine de a-şi modifica configuraţia, formînd structuri secundare sau terţiare, i-a permis lui Pauling, în 1940, să formuleze, printre alţii, *o teorie instructivă* a formării anticorpilor prin mecanismul „modelului direct": lanţurile polipeptidice care vor genera anticorpii sînt capabile, în funcţie de împrejurări, să se aranjeze în cele mai variate dispoziţii tridimensionale. Datorită acestei proprietăţi, un lanţ peptidic sintetizat recent, venind în contact cu o structură antigenică, se modelează după această structură. Modelul reprezentat de antigen determină astfel structura spaţială a polipeptidului devenit anticorp, imprimîndu-se ca o literă de tipar. Noua structură este stabilizată de apariţia de punţi de hidro-

Scanned with OKEN Scanner

moartea celulei respective. Toxina este formată din două grupări legate între ele, una haptoforă, care se fixează de lanţul lateral al celulei, şi cealaltă toxoforă, responsabilă de acţiunea toxică asupra celulei. Saturarea de către toxine a numeroase celule din organism duce la moartea acestuia. Dimpotrivă, lipsa de potrivire structurală între haptofor şi receptorii celulari se traduce prin lipsa de susceptibilitate a organismului la toxina respectivă.

În cazul cînd saturarea receptorilor de către toxină este incompletă şi celulele supravieţuiesc, ele îşi regenerează în exces aceşti receptori, analog regenerării în exces a organelor locomotorii pierdute accidental de către animalele inferioare. Excesul de receptori este eliberat în sînge şi umori: ei constituie receptorii liberi sau antitoxinele, capabili să neutralizeze toxinele apărute din nou în organism şi responsabili deci de rezistenţa acestuia faţă de o nouă infecţie. Antitoxinele reprezintă, după Ehrlich, receptori de primul ordin. Anticorpii antimicrobieni (aglutinine, precipitine) reprezintă receptori de ordinul al doilea, produşi după acelaşi mecanism, care, pe lîngă grupul haptofor care se combină cu microbul, conţin un grup zimofor, responsabil de acţiunea de aglutinare sau precipitare. Receptorii capabili să se combine prin grupul haptofor sau citofil cu bacterii sau celule, iar prin celălalt capăt, numit complementofil, cu complementul, antrenînd liza structurilor microbiene sau celulare pe care s-au fixat, sînt consideraţi receptori de ordinul al treilea sau amboceptori (bacteriolizine, citolizine). Importanţa ipotezei lui Ehrlich constă în faptul că ea devansează, în conformitate cu cunoştinţele epocii, teoriile actuale selective ale imunităţii, subliniind mecanismul selectiv al fenomenului şi importanţa analogiilor structurale dintre antigene şi anticorpi.

Ulterior însă, lucrările lui Landsteiner (1936) au demonstrat existenţa unui număr enorm de antigene naturale sau artificiale şi a făcut astfel să pară puţin verosimilă ipoteza lui Ehrlich asupra unor receptori preformaţi, capabili să recunoască aceste antigene.

Demonstrarea naturii polipeptidice a anticorpilor şi a proprietăţii acestor proteine de a-şi modifica configuraţia, formînd structuri secundare sau terţiare, i-a permis lui Pauling, în 1940, să formuleze, printre alţii, *o teorie instructivă* a formării anticorpilor prin mecanismul „modelului direct": lanţurile polipeptidice care vor genera anticorpii sînt capabile, în funcţie de împrejurări, să se aranjeze în cele mai variate dispoziţii tridimensionale. Datorită acestei proprietăţi, un lanţ peptidic sintetizat recent, venind în contact cu o structură antigenică, se modelează după această structură. Modelul reprezentat de antigen determină astfel structura spaţială a polipeptidului devenit anticorp, imprimîndu-se ca o literă de tipar. Noua structură este stabilizată de apariţia de punţi de hidro-

Scanned with OKEN Scanner

gen care leagă porţiunile plicaturate. Anticorpul reprezintă structura complimentară negativă a antigenului în care acesta va pătrunde la un nou contact asemeni cheii în broască, putînd fi astfel neutralizat (fig. 1). Incapacitatea teoriei instructive de a se acorda noilor concepţii

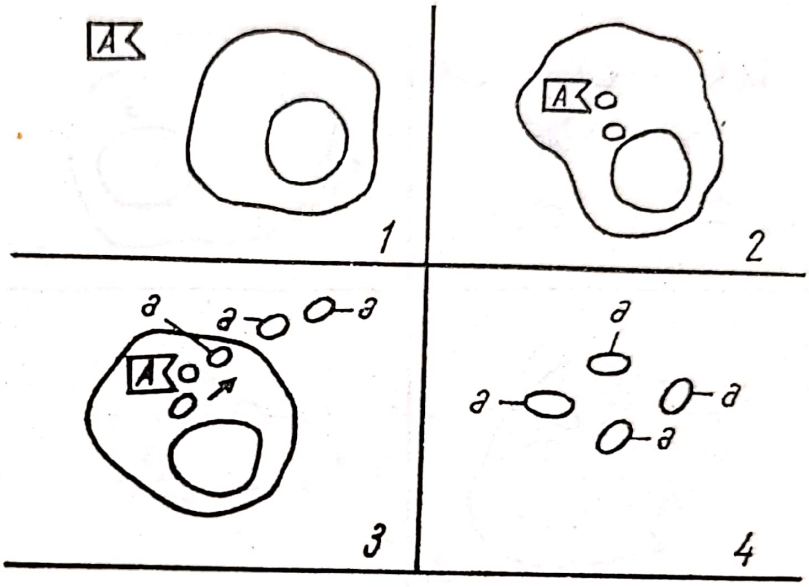


Fig. 1. — Teoria instructivă (Pauling). Lanţurile polipeptidice nespecifice capătă o configuraţie specifică în urma contactului cu antigenul (după Burnet, 1969).

despre sinteza proteinelor şi de a explica toleranţa imunologică şi caracterul variabil al unui anumit anticorp în timpul imunizării a generat *teoriile selective*, în general demonstrate de cercetările experimentale. Apariţia lor a fost determinată de noile cunoştinţe despre structura chimică a anticorpilor, de descoperirea procesului de selecţie a tulpinilor microbiene rezistente la antibiotice şi de studiile asupra imunităţii de transplantare. După metafora lui Roitt (1971), natura, prin mecanismele complicate ale procesului de evoluţie, a preferat sistemului învechit, meşteşugăresc, al executării unui costum la comandă, sistemul modern al unui supermagazin în care oricine îşi găseşte imediat un costum pe măsură.

Prima explicaţie în acest sens, întreprinsă de Jerne (1955), a fost sugerată de observaţia asupra existenţei urmelor de anticorpi faţă de diferite antigene în serul indivizilor sănătoşi. El a considerat că acestea reprezintă anticorpi preexistenţi, capabili să se combine cu antigenul respectiv cînd acesta pătrunde în organism. Consecutiv, complexul antigen-anticorp este captat de celulele reticuloendoteliale din organism, care produc apoi în cantitate mare anticorpul respectiv, generînd reacţia imună. Deci, încă de la naştere, organismul posedă o gamă largă de anticorpi preformaţi, capabili să reacţioneze cu toţi determinanţii antigenici susceptibili de a fi întîlniţi în cursul vieţii. Antigenul este deci cel ce selecţionează tipul de anticorp care va fi produs în cursul reacţiei

imune, de fapt accelerînd şi amplificînd un proces existent în organism încă de la naştere (fig. 2).

Ipoteza avea meritul de a explica existenţa anticorpilor naturali, cum ar fi imunoglobulinele de grup sanguin, precum şi alte aspecte ale imu-

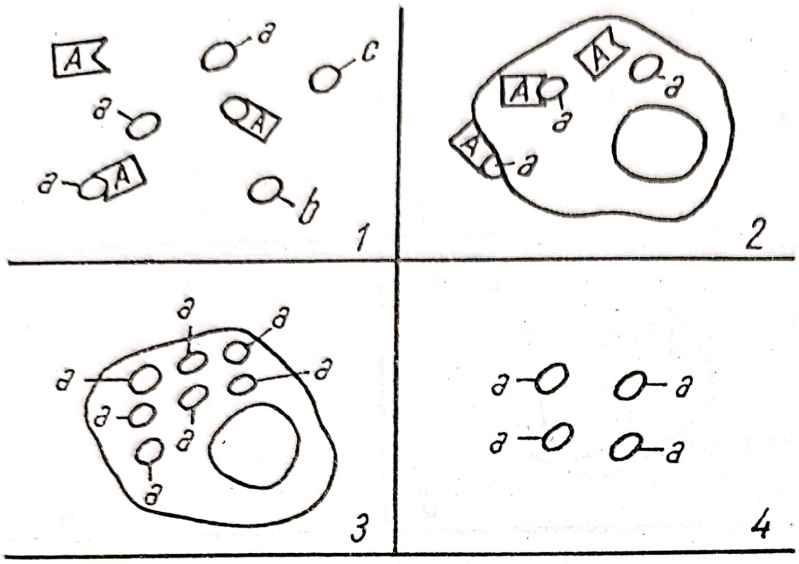


Fig. 2. — Teoria selecţiei naturale (Jerne). Anticorpii naturali se combină cu antigenul; complexul format este ingerat de o celulă fagocitară, care va produce anticorpi de tipul celor ingeraţi (după Burnet, 1969).

nităţii de transplantare. Ipoteza nu dădea însă o explicaţie satisfăcătoare asupra originii acestor anticorpi naturali selecţionaţi de antigen şi asupra mecanismului prin care celulele care înglobau complexul antigen-anticorp erau determinate să producă o anumită structură globulinică. Totuşi, şi astăzi există partizani ai unei forme înnoite a acestei ipoteze, în sensul că înglobarea de către macrofage a complexului antigen-anticorp este prima fază specifică a reacţiei imune, antigenul fiind transmis apoi, într-o formă corespunzătoare, celulelor limfoide care vor dezvolta reacţia imună.

Originea acestor anticorpi în celule limfoide, determinate genetic să recunoască un anumit antigen, a fost sugerată de Burnet în 1957 şi explicată în 1959 sub forma teoriei *selecţiei celulare sau clonale*. Cu o largă aplicare în patologie şi, în general, confirmată de descoperirile ulterioare, această teorie sintetizează armonios şi convingător datele recente de genetică moleculară şi imunologie experimentală. Prin elaborarea ei, Burnet a devenit figura principală a imunologiei, dacă nu a medicinii contemporane.

Conform *teoriei selecţiei clonale*, orice organism posedă o populaţie celulară dotată cu capacitate de reacţie imună (imunocite), formată din celule sau mici grupuri de celule avînd aceeaşi origine (clone), care încă de la naştere sînt condiţionate genetic să recunoască şi să reacţioneze specific cu unul din antigenele susceptibile de a fi întîlnite în cursul vieţii.

Scanned with OKEN Scanner

În acest sens, antigenul pătruns sau apărut într-un organism este cel care selecționează clona celulară care va prolifera și va produce reacția imună (fig. 3). Numărul clonelor de imunocite corespunde numărului antigenelor care au fost întîlnite în decursul existenței unei specii și,

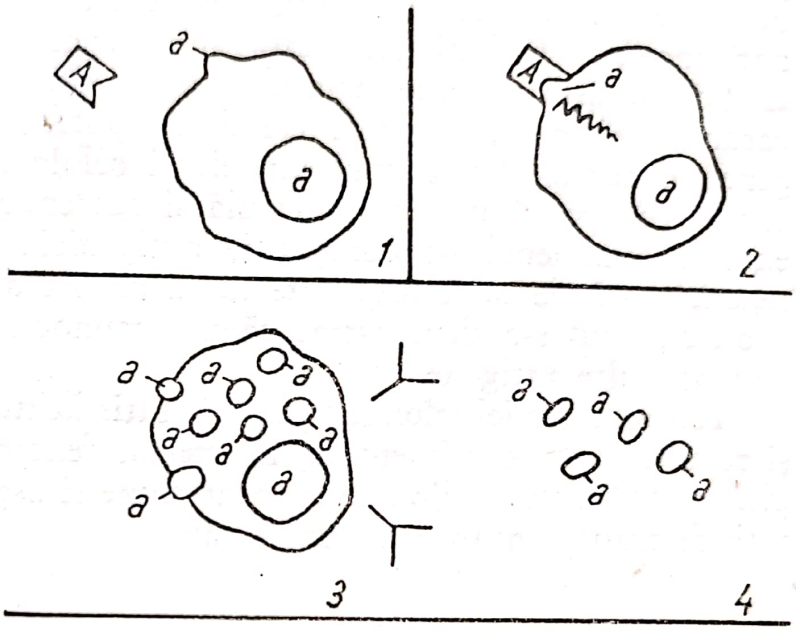


Fig. 3. — Teoria selecției clonale (Burnet). Celulele nediferențiate dezvoltă, printr-un proces de modificări genetice, diferite configurații imune, din care numai una este exprimată la nivelul fiecărei celule sau al clonei provenite din ea. Contactul cu antigenul respectiv selecționează clona respectivă pentru reacția imună specifică (după Burnet, 1969).

după cum s-a menționat, este de domeniul zecilor de mii. Capacitatea de recunoaștere a lor fiind înscrisă în genomul unei specii, va determina reacția fiecărui individ din specia respectivă față de aceste antigene. Recunoașterea unui anumit antigen este un fenomen specific și se bazează pe analogia structurală, moleculară, dintre acest antigen și anumite structuri cu funcție de receptori de pe suprafața limfocitelor sau a anticorpilor produși de ele.

Caracterul reacției determinate de această recunoaștere depinde în mare măsură de concentrația antigenului, ca și de gradul de maturitate a limfocitelor. În funcție de acești factori, contactul dintre antigen și clona respectivă determină de cele mai multe ori proliferarea acesteia și o reacție eficientă, dar poate determina o proliferare fără efecte evidente sau chiar distrugerea clonei respective, cînd ea este insuficient de matură.

Rezultatele experimentale au confirmat în general teoria lui Burnet. Un anumit antigen marcat cu radioizotopi sau substanță fluorescentă este reținut de aproximativ 0,1—0,2% din limfocitele unui organism, care reprezintă clona respectivă. La o nouă inoculare, numărul celulelor marcate de antigen este mult mai mare, indicînd proliferarea clonei respective. Marcarea unui antigen cu o cantitate limfocidă de radioizotop și inocularea lui la un animal duce la suprimarea reactivității față de o nouă inoculare

Scanned with OKEN Scanner

a antigenului respectiv: clona corespunzătoare a fost distrusă de prima inoculare.

Teoria se potriveşte şi cu apariţia centrilor germinali exprimînd clona în proliferare, cu dinamica apariţiei anticorpilor şi prezenţa receptorilor pe suprafaţa limfocitelor. Ea nu este contrazisă nici de numărul mare de clone care ar trebui să existe pentru a reacţiona cu numărul mare de antigene posibile. Unii cercetători, în special Lederberg (1959), au căutat să explice această situaţie prin faptul că procesul de selecţie ar avea un caracter subcelular, fiecare celulă ar putea recunoaşte mai multe antigene, contactul dintre unul din ele şi celula respectivă selecţionînd anticorpul care va fi produs de celulă şi descendenţii săi (fig. 4). Astfel s-ar explica fenomenul de competiţie antigenică, caracterizat prin inhibarea reacţiei faţă de un antigen de către un alt antigen, ca şi situaţiile, rare dealtfel, cînd s-a demonstrat că un imunocit este capabil să reacţioneze cu mai multe antigene.

Teoria selecţiei clonale explică satisfăcător majoritatea observaţiilor şi rezultatelor experimentale, în special fenomenul de toleranţă imunologică, producerea bolilor de autoagresiune şi aspectele principale ale imunităţii de transplantare şi antitumorale.

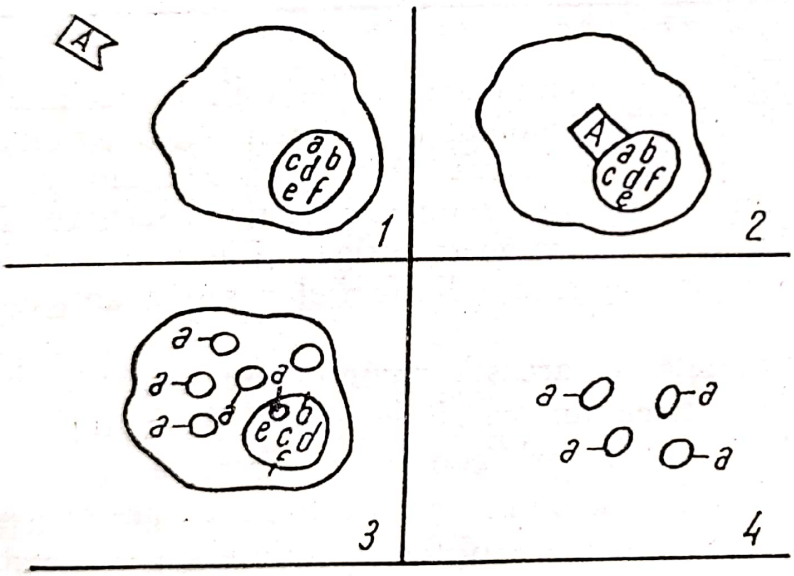


Fig. 4. — Teoria selecţiei subcelulare (Lederberg). Fiecare celulă are capacitatea de a produce anticorpi pentru mai multe antigene. Contactul cu antigenul selecţionează producerea anticorpilor respectivi (după Burnet, 1969).

Proprietatea unui organism de a nu reacţiona cu propriile sale antigene, de a diferenţia ceea ce este propriu (*self*) de ceea ce este străin (*non-self*) se datoreşte existenţei unui cod de autorecunoaştere, în care, în cursul vieţii prenatale, sînt înscrise toate antigenele proprii. În termenii selecţiei clonale, acest proces se traduce prin blocarea sau interzicerea reactivităţii clonelor care ar putea să recunoască aceşti antigeni. Burnet şi Mackay (1962) situează în timus acest cod de autorecunoaştere, timu-

Scanned with OKEN Scanner

sul fiind centrul aparatului de homeostazie imunologică. Pătrunderea accidentală sau introducerea experimentală a unor structuri antigenice străine într-un organism fetal ar trebui să ducă la înscrierea acestor antigene în codul de autorecunoaştere şi la inducerea unei toleranţe sau

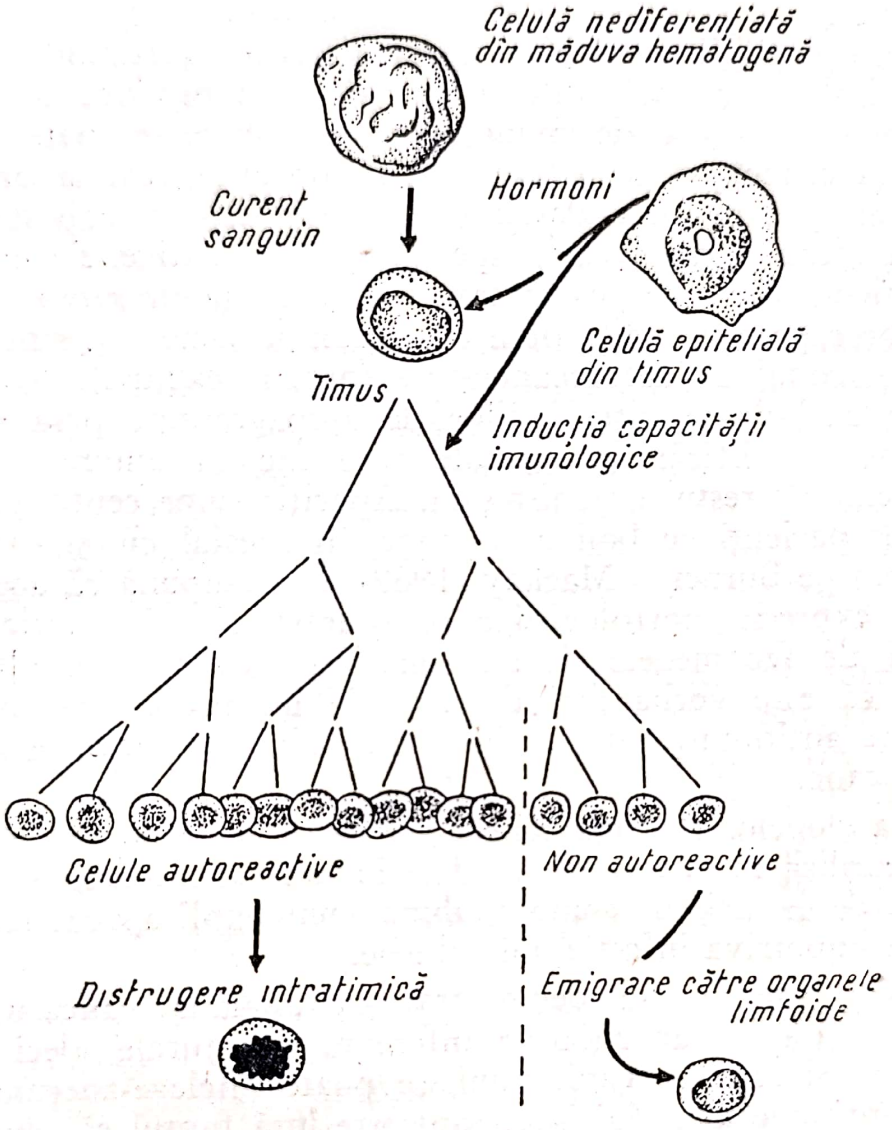


Fig. 5. — Rolul ipotetic al timusului în realizarea autotoleranţei (după Goldstein, 1972).

lipse de reactivitate a organismului la un contact postnatal cu antigenul respectiv (fig. 5). Acest fapt este confirmat de existenţa himerelor, organisme care conţin celule sau ţesuturi de la mai mulţi indivizi, acestea fiind tolerate datorită contactului prenatal. Aşa sînt, de exemplu, viţeii care conţin hematii de grup diferit datorită amestecului de sînge al gemenilor heterozigoţi la nivelul circulaţiei placentare comune. Experimental, se poate realiza toleranţa postnatală faţă de anumite antigene

Scanned with OKEN Scanner

prin inocularea lor prenatală în organismele respective. Timectomia practicată prenatal sau chiar la scurt timp după naştere induce, de asemenea, o largă toleranţă. Acelaşi efect poate fi obţinut prin alte metode capabile să distrugă populaţia limfoidă responsabilă de reactivitatea imunologică a unui organism (iradiere, substanţe chimice, ser antilimfocitar etc.).

În anumite condiţii patologice, cum sînt bolile infecţioase (în special de natură virală) sau unele intoxicaţii, se poate produce o dereglare a mecanismelor de homeostazie imunologică, şi anume, se poate ca o clonă, interzisă pînă atunci, să se activeze şi să producă reacţia organismului faţă de un antigen propriu, determinînd apariţia unei boli de autoagresiune. Acest lucru se produce în special faţă de antigenele unor organe (tiroidă, testicul, sistem nervos central, cristalin, glande suprarenale), care, datorită unor raporturi mai reduse cu circulaţia generală, sînt mai puţin imprimate în codul de autorecunoaştere (organe excluse). Această eventualitate nu exclude apariţia bolilor de autoagresiune prin mecanismul inducerii unor modificări structurale care fac ca anumite ţesuturi să difere antigenic de restul organismului. Apariţia unor centri germinali în timusul unor pacienţi cu boli autoimune, în special cu miastenie gravă, i-a determinat pe Burnet şi Mackay (1962) să presupună că această modificare ar fi expresia morfologică a proliferării clonei anterior interzise, responsabilă de fenomenele de autoagresiune. Cercetările ulterioare au arătat însă că este vorba mai degrabă de un proces de concomitentă autoagresiune antitimus, datorită identităţii dintre antigenele timusului şi ale altor organe.

Existenţa clonelor de imunocite capabile să reacţioneze cu orice antigen străin explică reacţia eficientă de eliminare a oricărei grefe de ţesut străin, încă de la primul contact, după cum explică reacţia, de multe ori eficientă împotriva infecţiei microbiene.

În sfîrşit, întrucît s-a demonstrat că apariţia cancerului într-un organism coincide cu apariţia de diferenţe structurale, deci antigenice, între tumoare şi restul organismului, se poate înţelege mecanismul reacţiei imune antitumorale. Mai interesant este însă faptul că, după Thomas (1959) şi Burnet (1967), necesitatea de a se evita apariţia şi proliferarea tumorilor maligne a fost una din cauzele, dacă nu cauza principală, a apariţiei imunităţii la nivelul vertebratelor, fapt sugerat de studiul acestui fenomen pe scara filogenetică.

2. FILOGENEZA IMUNITĂŢII

Fenomene de imunitate adevărată se întîlnesc la animalele superioare, la vertebrate, la care ele se perfecţionează progresiv. La om şi la aceste animale, organismul este capabil să reacţioneze specific faţă de un anumit

Scanned with OKEN Scanner

antigen, un nou contact cu același antigen generînd o reacție mai rapidă și mai intensă; aceasta exprimă ceea ce s-a numit caracterul anamnestic sau memoria fenomenului. Burnet (1969) numește *imunitate adaptativă* această formă perfecționată a recunoașterii structurilor străine, subliniind că acest caracter specific și anamnestic al fenomenului permite de cele mai multe ori organismului să supraviețuiască și să-și păstreze individualitatea, să se adapteze pătrunderii sau apariției acestor structuri străine. La mamifere și om, imunitatea se caracterizează prin capacitatea de a respinge transplantele de țesuturi străine, de a reacționa specific față de un anumit antigen printr-o hiperplazie de limfocite și plasmocite. Primele reacționează direct cu antigenele (imunitate de tip celular), ultimele prin producerea de anticorpi, substanțe solubile de natură globulinică (imunitate de tip umoral).

Burnet (1969) a intuit originea imunității în proprietatea organismelor inferioare, inclusiv a protozoarelor, de a diferenția structurile proprii de cele străine, în terminologia universal acceptată a autorului, de a diferenția „self"-ul de „non-self". Această proprietate reprezintă, după Moraru și Sulică (1969), un atribut universal al materiei vii. Din această proprietate rudimentară, procesul de evoluție, selecționînd mecanisme mai bine adaptate conservării vieții indivizilor și speciei, a derivat complexul fenomen în continuă perfecționare al imunității.

În ultimul timp s-au obținut rezultate experimentale interesante, care permit urmărirea diferențierii funcției primitive de recunoaștere a structurilor străine în imunitate. După sugestiva comparație a lui Hildeman (1974), fenomenul prezintă nivelul de organizare al unei biciclete la nevertebrate, al unei mașini de campanie la pești și amfibieni și al unui Rolls-Royce la păsări și mamifere, subliniind că în anumite împrejurări, bicicleta și mașina de campanie pot să fie mai utile decît un Rolls-Royce.

După cum s-a menționat anterior, capacitatea protozoarelor de a utiliza alte organisme, în special alge și bacterii, ca hrană reprezintă prima manifestare a diferențierii propriului de străin. Faptul că sînt digerate numai structurile străine demonstrează că aceste organisme primordiale sînt capabile să distingă cu multă finețe materia proprie de materia străină. De fapt, încă din 1884, cînd a descris fenomenul de fagocitoză, Mecinikov considera capacitatea leucocitelor de a îngloba microbi sau paraziți în scopul distrugerii lor, derivată din capacitatea protozoarelor de a îngloba substanțe nutritive. Transplantările experimentale la protozoare ciliate sau amebe sînt urmate de supraviețuirea receptorului cînd transplantul este de aceeași specie, dar produc moartea celulei cînd provine de la genuri sau specii diferite.

La metazoare, la nevertebratele inferioare (spongieri, celenterate, moluște sau viermi), toate celulele organismului par să-și păstreze pro-

Scanned with OKEN Scanner

prietatea de diferenţiere a propriului de străin, care de multe ori se traduce prin capacitatea de respingere a transplantelor de ţesuturi străine, considerată de Hildeman (1974) ca o funcţie de imunorecunoaştere sau, mai bine-zis, de recunoaştere a ţesuturilor străine. Transplante provenite de la alte colonii sau alte specii sînt respinse, în timp ce autotransplantele sînt tolerate. Respingerea se traduce prin apariţia unei zone de necroză la nivelul contactului dintre transplant şi receptor, ducînd pînă la urmă la necroza transplantului. Eliminarea mai rapidă a transplantelor provenite de la specii mai îndepărtate arată că de fapt este vorba de fenomene de histoincompatibilitate, determinate genetic. Fenomenul experimental coincide cu reacţiile de respingere care se produc în natură, cînd indivizi care provin din colonii diferite (incompatibile) se întîlnesc între ei (se ştie că, dacă sînt compatibili, ei fuzionează).

Un aspect interesant al mecanismului care stă la baza acestui fenomen este relevat de experienţele lui Theodor (1970) pe celenteratele gorgonacee. La aceste animale se poate obţine toleranţa unui transplant respins în mod normal, prin tratarea sa prealabilă cu substanţe care blochează metabolismul proteic, deci activitatea enzimatică (actinomicină D, p-fluorofenil-amină). Tratarea analoagă a receptorului este lipsită de efect. Se pare că în contact cu un receptor incompatibil, în transplant se declanşează o serie de reacţii enzimatice care duc la necroza acestuia: contactul cu un receptor incompatibil induce „sinuciderea" enzimatică a transplantului, de unde numele de „sinucidere indusă" atribuit acestui fenomen de către Theodor. Există multă analogie între acest fenomen şi cel presupus de Billingham (1967) ca stînd la baza distrugerii celulelor străine de către limfocite. După un prim timp, specific, în care limfocitele aderă de celulele faţă de care erau sensibilizate, ele eliberează substanţe nespecifice, de felul histaminei, care într-un al doilea timp, activează complexele lisosomale ale celulelor respective, producînd necroza acestora.

Fenomenul de *inhibiţie alogenică* sau simpatie singenică, descris de soţii Hellström (1964), ar putea să reprezinte persistenţa la organisme superioare, la vertebrate, a fenomenelor ancestrale de respingere a transplantelor incompatibile de către ţesuturi lipsite de competenţă imunologică propriu-zisă.

Această incompatibilitate, determinată aparent de lipsa de potrivire a structurilor proteice de la suprafaţa celulelor epiteliale, ca şi a altor celule, este completată la viermii inelari prin apariţia unor celule mobile din cavitatea celomică, celomocitele, care, asemeni macrofagelor de la vertebrate, se aglomerează la nivelul transplantului pe cale de eliminare. La aceste animale se schiţează pentru prima dată o memorie imunologică de scurtă durată: repetarea transplantării aceluiaşi ţesut duce la eliminarea

Scanned with OKEN Scanner

sa accelerată, dacă s-a făcut la scurt timp după prima eliminare. Experimental, s-a putut obține eliminarea accelerată a unui transplant, prin inocularea receptorului cu suspensie de celomocite de la un animal care eliminase deja transplantul respectiv. Inocularea de ser este lipsită de acest efect.

La echinoderme și insecte, funcția de eliminare a transplantelor este preluată de celule sanguine sau hemociți. Introducerea de microbi ori paraziți sau executarea de transplante incompatibile este urmată de aglomerarea acestor celule în jurul structurilor străine, cu formarea unor bariere celulare, care ulterior se fibrozează. Anumite proteine cu structură asemănătoare globulinelor prezente pe suprafața hemociților sau în ser, capabile uneori să aglutineze hematii străine, reprezintă în acest stadiu de dezvoltare, originea anticorpilor. La unele echinoderme, apar hemociți de mai multe tipuri, macrofage, celule limfoide și granulocite eozinofile, care constituie infiltrate inflamatorii la nivelul transplantului pe cale de eliminare, fenomen ce coincide cu prezența unei scurte memorii imunologice, mai bine precizată decît la viermi. Acest stadiu ar reprezenta, după Hildeman (1974), forme de memorie celulară primordială.

Cît privește semnificația acestor fenomene de recunoaștere la nevertebrate, Burnet (1968) crede că ele au rolul de a asigura vitalitatea speciei, evitînd fenomenele de parazitism intraspecific la aceste specii care trăiesc de multe ori în colonii. În același sens ar acționa și mecanismele bazate pe autorecunoaștere, care împiedică autofecundarea la speciile hermafrodite. Evitarea parazitismului intraspecific, ca și a autofecundării ar trebui, după Burnet (1971), să asigure un grad optim de heterozigozitate speciei respective. Homozigozitatea la care s-ar ajunge, prin autofecundare, ca și inconvenientele produse de parazitismul intraspecific ar periclita grav existența speciei respective, determinînd ceea ce acest autor numește „crize de evoluție". Dimpotrivă, o heterozigozitate optimă produce avantaje de supraviețuire speciei respective și explică dezvoltarea „explozivă" a unor specii în cursul evoluției, cum sînt vertebratele.

S-a subliniat în mod justificat analogia care există între aceste fenomene de autorecunoaștere întîlnite la animalele inferioare și fenomene asemănătoare caracteristice plantelor, în special fanerogamelor angiosperme. Burnet (1971) consideră auto-incompatibilitatea fanerogamelor pentru fecundare cu propriul polen ca o corespondență a fenomenului de autorecunoaștere la animale și avînd rol important în menținerea heterozigozității adecvate și a vitalității speciei respective.

Odată cu apariția vertebratelor, se precizează diferențierea hemocitelor în diferitele forme de limfocite, în macrofage și leucocite polinu-

Scanned with OKEN Scanner

cleare (fig. 6). Celulele limfoide dobîndesc capacitatea de a reacţiona la contactul cu structuri antigenice străine prin proliferare de populaţii celulare sau clone capabile să reacţioneze specific cu aceste structuri şi să le distrugă. Aceste reacţii capătă un caracter anamnestic şi, astfel, apare adevărata imunitate adaptativă. Coincidenţa dintre apariţia vertebratelor, imunităţii şi cancerului a fost determinată, în concepţia lui Thomas (1959) şi Burnet (1967), de două circumstanţe principale:

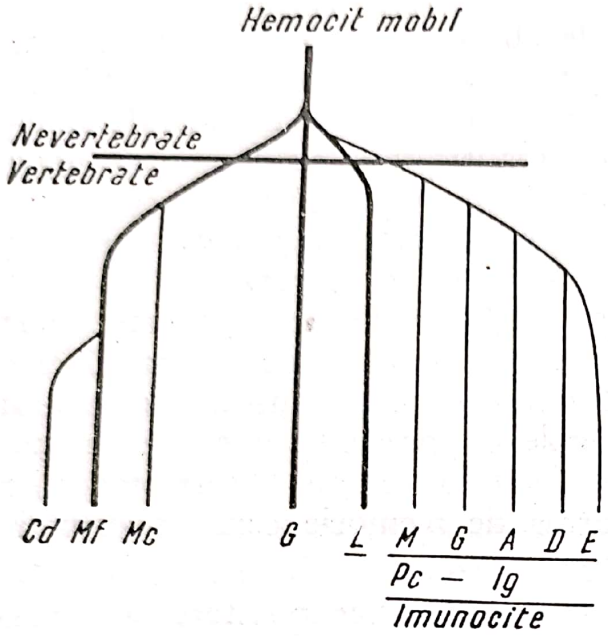


Fig. 6. — Diferenţierea imunităţii pe scara filogenetică:

cd = celule dendritice; *mc* = monocite; *mf* = macrofage; *g* = granulocite; *l* = limfocite; *pc* = plasmocite; *Ig* = imunoglobuline.

a. **Necesitatea evitării fenomenelor de parazitism intraspecific.** La precursorii imediaţi ai vertebratelor (cordate, peşti primitivi) se pare că există o tendinţă marcată spre parazitismul intraspecific sau între specii apropiate, ceea ce a avut drept consecinţă perfecţionarea mecanismelor de reacţie la contactul cu ţesuturile străine. Cordatele (ascidii, tunicieri) trăiesc în general în colonii, iar la ciclostomi există o evidentă tendinţă de parazitare a indivizilor maturi de către indivizii tineri. O dovadă a importanţei reacţiei organismului faţă de contactul cu ţesuturi incompatibile înrudite este observaţia lui Oka (1970), şi anume că, la ascidianul Botryllus, reacţia de respingere este mai puternică faţă de indivizii de aceeaşi specie, decît faţă de cei de altă specie.

Un aspect particular al problemei îl reprezintă şi faptul că, la acest nivel de filogeneză, devine din ce în ce mai frecvent fenomenul de viviparitate. Aceasta a contribuit, probabil, de asemenea, la perfecţionarea mecanismelor de reacţie împotriva ţesuturilor străine, avînd în vedere faptul că fătul încearcă uneori să permanentizeze situaţia comodă de parazit. După Prehn (1972), o moderată reacţie imună a organismului matern stimulează dezvoltarea organismului fetal. Expulsia fătului şi naşterea ar putea fi expresia unei reacţii imune devenite intolerante.

b. **Necesitatea controlului tumorilor maligne.** Cancerul veritabil apare, cu frecvenţă crescîndă, numai la vertebrate [unele leziuni cu aspect tumoral întîlnite la insecte sînt mai degrabă malformaţii (Lombard, 1962)]. Coincidenţa s-ar datora faptului că aceste animale trăiesc suficient de mult pentru ca acţiunea repetată a factorilor de mediu sau

Scanned with OKEN Scanner

erorile intrinseci ale procesului de mitoză să poată duce la acumularea de mutaţii care să transforme celulele normale în celule canceroase, diferite antigenic, deci susceptibile de a fi recunoscute ca străine. În lipsa unui sistem adecvat de supraveghere imunologică, cancerul ar fi atît de frecvent, încît ar periclita existenţa unor specii. Scăderea eficienţei acestui sistem la om după vîrsta de 40 de ani, s-ar datora faptului că mecanismele evoluţiei n-au selecţionat menţinerea eficienţei imunităţii peste această vîrstă, cînd indivizii au ieşit din perioada reproductivă şi nu mai prezintă importanţă din punctul de vedere al conservării speciei.

Diferenţierea imunităţii ar fi impusă deci, în primul rînd, de necesitatea recunoaşterii şi suprimării unor celule canceroase, rezultate printr-un proces de mutaţie somatică, care ar putea genera tumori maligne ce periclitează viaţa organismului. Imunitatea de transplantare nu reprezintă decît expresia, în condiţii artificiale, a unui fenomen în mod normal îndreptat împotriva unor celule proprii nocive organismului, diferite antigenic.

Ulterior, mecanismele imune s-au adaptat şi împotriva infecţiei microbiene şi, pe lîngă reacţiile de tip celular, au apărut anticorpii umorali. Substratul structural al imunităţii îl constituie organele limforeticulare, în special timusul. La ciclostomi, cordatele la care apare imunitatea, se poate urmări dependenţa fenomenului de dezvoltare a acestor organe. Astfel, la ciclostomii inferiori (*Eptatretus*), care, deşi posedă o splină primitivă şi organe hematopoietice, sînt lipsiţi de timus, ganglioni limfatici şi structuri limfatice digestive şi nu au limfocite şi plasmocite, ci numai macrofage şi polinucleare, nu se constată decît fenomenul de respingere a transplantelor. La ordinul înrudit, dar evoluat, al chişcarilor (*Petromyzon*), apariţia unui timus limfoid cu prezenţa de limfocite în sînge, măduvă şi splină, coincide cu respingerea specifică a transplantelor şi apariţia reacţiilor de hipersensibilitate întîrziată şi a anticorpilor.

Pe măsură ce structura limfoidă a timusului se precizează, la peşti se dezvoltă şi celelalte organe limfoide şi reacţiile imune se perfecţionează. Apariţia bursei Fabricius la păsări precizează existenţa a două categorii de limfocite şi caracterul dualist, celular şi umoral, al reacţiilor imune. Imunitatea devine un mecanism care, chiar dacă nu este atît de infailibil ca un calculator electronic, este uneori mai complex şi totdeauna mai subtil.

Făcînd o sinteză a datelor actuale asupra filogenezei structurilor participante la reacţiile de apărare, Mârza (1977), în conformitate cu teoria asupra sistemelor biologice elaborată de Bertalanffy, împarte sistemul general şi complex de apărare a organismelor superioare în două subsisteme de ordinul II, şi anume subsistemul epiteliostromal şi subsistemul imunogen.

Scanned with OKEN Scanner

Subsistemul epiteliostromal, expresie a unei forme primitive de rezistenţă, eficientă în fenomenele de apărare locală, constă din epitelii şi structurile alăturate (endotelii, membrane pericapilare şi histiocite) şi nu produce anticorpi. Funcţional, poate fi împărţit în alte două subsisteme de ordinul III, unul epiteliostromal, celălalt reprezentat de microcirculaţie, ambele în strînsă corelaţie şi interdependenţă.

Subsistemul imunogen, cea mai perfecţionată formă de apărare antitumorală şi antiinfecţioasă, este format de organele limfoide. Acestea pot fi clasificate în organe limfoide primare şi secundare, reprezentînd două subsisteme de ordinul III. În organele limfoide primare, care au în general o structură limfoepitelială, are loc instrucţia funcţională a celulelor ce vor participa la reacţiile imune celulare şi umorale. În organele limfoide secundare, cu structură mezenchimatoasă, se produc fenomene de reacţie imună propriu-zisă. La nivelul lor se distinge linia celulelor limfoide care produce reacţii imune specifice şi linia histiocitară-macrofagică, linie care participă aparent nespecific la aceste reacţii.

Sistemul propus de Mârza are meritul de a sublinia originea mezenchimatoasă a celulelor participante la reacţia imună, ca şi faptul că sistemul imunogen reprezintă cea mai evoluată formă de rezistenţă faţă de structuri străine organismului. El atrage însă atenţia şi asupra formelor mai primitive de rezistenţă reprezentate prin structurile epiteliostromale. Aceasta coincide cu importanţa acordată recent de Apffel (1976) mijloacelor neimunologice de rezistenţă ale organismului împotriva cancerului, cum sînt calonele, diverşii factori oncolitici din ser şi exsudate etc.

3. IMPORTANŢA IMUNITĂŢII ÎN PATOLOGIE

După Burnet (1968), viaţa apare ca un sistem structural dinamic, care se menţine suficient timp pentru a produce urmaşi structuraţi identic, capabili la rîndul lor să transmită informaţia necesară reproducerii structurii respective. Mediul înconjurător, care a permis şi a determinat apariţia fiinţelor vii, le condiţionează şi le ameninţă permanent existenţa, aşa încît modul de desfăşurare a vieţii apare ca rezultatul interacţiunii dintre organism şi mediu, dintre ereditate şi natură. În acest sens, procesele patologice pot fi împărţite în boli datorate acţiunii mediului asupra unor organisme cu capacitate de reacţie normală (infecţii microbiene, infestaţii parazitare, boli de nutriţie, prin carenţe sau excese, traumatisme) şi boli datorate unei susceptibilităţi genetice deosebite faţă de anumiţi factori (cancer, boli de autoagresiune, boli degenerative cardiovasculare şi nervoase, bătrîneţea). Imunitatea are un rol determinant în evoluţia infecţiilor şi infestaţiilor şi în bolile de autoagresiune, în

Scanned with OKEN Scanner

timp ce rolul ei este încă discutabil în producerea și evoluția bolilor de nutriție, a bolilor degenerative, a traumatismelor, cancerului și bătrîneții.

Astfel, este indiscutabil rolul determinant al imunității în bolile infecțioase și succesele obținute în controlul ocestor boli se datoresc în mare parte metodelor imunologice, după cum deficiențele imune sînt cauza principală a eșecurilor terapeutice. De asemenea, imunitatea normală este responsabilă de respingerea transplantelor incompatibile.

Bolile de autoagresiune apar ca rezultatul unei funcții defectuoase, uneori indusă de mediu, a supravegherii imunologice. Întrucît imunitatea este produsul evoluției, deci al selecționării unei succesiuni de copieri greșite a mesajului genetic, trebuie să fim indulgenți cu anumite greșeli ale ei, exprimate prin aceste boli.

Importanța imunității normale sau stimulate în echilibrarea cît mai rapidă a tulburărilor funcționale, în evitarea complicațiilor infecțioase și repararea țesuturilor lezate la persoanele traumatizate a fost subliniată în special de Bogomeleț (1943) sau de Zweifach (1961). Indivizii cu imunitate deprimată fac mai des forme grave, incompensabile de șoc și complicații prelungite, în special infecțioase sau distrofice. De asemenea, persoanele cu imunitate deprimată sînt mai susceptibile la acțiunea toxicelor și prezintă complicații mai grave în cazul bolilor carențiale.

Nu există încă argumente incontestabile în sprijinul ipotezei formulate în special de Burch (1968) conform căreia marele grup de boli degenerative cardiovasculare, renale sau nervoase, caracteristice vîrstei înaintate, ar avea o bază autoimună. Un răspuns afirmativ în acest sens ar permite punerea procesului de îmbătrînire, așa cum fac Burch (1968) sau Wallford (1969), pe seama unei supravegheri imunologice progresiv deficiente. Frecvența din ce în ce mai ridicată a mutațiilor somatice, eliminarea dificilă a acestor celule modificate, procesele autoagresive mai dese și mai extinse produc constituirea lentă, dar progresivă, a leziunilor degenerative caracteristice bătrîneții.

În sfîrșit, în ultimul timp se discută din ce în ce mai mult importanța imunității în apariția și evoluția cancerului, în sensul că această boală este rezultatul apariției în organism a unor celule anormale, celulele canceroase, care însă nu pot prolifera și produce tumori maligne decît la indivizi cu o imunitate deficientă. Această opinie constituie esența așa-numitei teorii imunogenetice a etiopatogenezei cancerului, acceptată la ora actuală de majoritatea specialiștilor în explicarea cauzelor și mecanismului de producere a bolii canceroase. Importanța imunității în cancer rezultă și din faptul că o serie de aspecte interesante ale reacției imune au fost descoperite pe modele experimentale tumorale.

Scanned with OKEN Scanner

B. TEORIA IMUNOGENETICĂ A ETIOPATOGENEZEI CANCERULUI

În cursul ultimului secol s-au formulat numeroase teorii care au încercat să explice cauzele şi mecanismul de producere al cancerului. Dintre acestea, de o atenţie deosebită s-au bucurat următoarele:

1. Teoria iritativă a lui Virchow (1886) pune producerea cancerelor pe seama unor iritaţii mici şi repetate generate de diverşi factori fizico-chimici şi inflamatori.

2. Teoria mugurilor embrionari sau celulari a lui Conheim (1877) şi Ribbert (1914) consideră tumorile maligne rezultatul proliferării unor grupuri de celule separate de restul organismului în cursul vieţii intrauterine sau mai tîrziu şi care, la un moment dat, scapă de sub influenţa mecanismelor de control ale proliferării celulare.

3. Teoria metabolică, reprezentată în special de Warburg (1930), pune la baza degenerării maligne a ţesuturilor anumite anomalii metabolice datorate lezării mecanismelor respiraţiei celulare.

4. Teoria virusală, elaborată de Zilber (1958), Oberling (1961), Nicolau (1955) şi alţi autori contemporani, consideră că factorul etiologic al tuturor tumorilor maligne este reprezentat de virusurile cancerigene.

Teoriile menţionate, ca şi multe altele mai mult sau mai puţin asemănătoare, prezintă deficienţa că nu sînt în măsură să explice complet unele sau altele din trăsăturile esenţiale ale cancerului, abordînd de obicei problema dintr-un punct de vedere unilateral.

Corelarea numeroaselor observaţii clinice şi experimentale cu privire la cancer, acumulate în special după 1950, cu noile cunoştinţe de genetică moleculară şi imunologie i-au determinat pe o serie de cercetători cu mare experienţă în această problemă să formuleze o *teorie imunogenetică* a etiopatogenezei bolii, după care cancerul este rezultatul unor mutaţii apărute într-un organism cu o imunitate deficientă.

Importanţa factorilor genetici în apariţia cancerului a fost întrezărită de la începutul secolului. Astfel, Hauser (1903) a considerat celula canceroasă ca o nouă rasă celulară, iar Boveri (1914) a incriminat un defect celular localizat pe cromatină ca vinovat de această transformare. Descoperirea fenomenului de *mutaţie* i-a permis lui Bauer (1928) să formuleze, prin sinteza observaţiilor existente, completate cu propriile sale cercetări, o teorie consistentă asupra rolului mutaţiei în carcinogeneză, sub forma teoriei genetice a etiopatogenezei cancerului. Mai puţin convingătoare prin argumentele furnizate de genetica clasică, ipoteza a primit o deosebită forţă odată cu impresionantele progrese făcute de genetica moleculară, corelate, după cum s-a spus, cu datele recente de cancerologie experimentală şi imunologie.

Scanned with OKEN Scanner

În lumina acestor date, cancerul se caracterizează prin apariţia în organism a unor celule anormale, celulele canceroase. Spre deosebire de celulele normale, celulele canceroase prezintă alterări metabolice care le fac să semene cu celulele embrionare şi le conferă o mare capacitate de proliferare; aceasta, nemaiţinînd seama de necesităţile organismului, duce — în lipsa unui tratament convenabil — la distrugerea organismului. Celulele canceroase se caracterizează deci prin *dediferenţiere, anarhie* şi *malignitate,* ceea ce caracterizează şi tumorile maligne care iau naştere din proliferarea lor.

Aceste proprietăţi ale celulelor canceroase sînt rezultatul modificării proprietăţilor celulelor normale de către o mutaţie sau o succesiune de mutaţii. Mutaţia reprezintă modificarea bruscă a unui caracter sau a unor caractere ereditare, în urma modificării structurii chimice a genei sau genelor care determină aceste caractere. Cînd interesează celulele germinale care vor da naştere unui nou individ, modificarea se va transmite ereditar. Prin aceasta, mutaţia reprezintă una din forţele principale ale procesului de evoluţie, care va selecţiona organismele cărora o anumită mutaţie le conferă şanse crescute de supravieţuire şi înmulţire (majoritatea mutaţiilor sînt însă indiferente sau nocive, chiar letale, pentru organismul respectiv).

Cînd mutaţia interesează restul celulelor organismului, aşa-numitele celule somatice, se numeşte mutaţie somatică şi se va transmite tuturor celulelor care provin din diviziunea celulei respective, constituind o clonă celulară diferită. Cancerul este deci rezultatul unei astfel de mutaţii somatice care generează o linie celulară cu proprietăţile menţionate ale celulelor canceroase. Posibilitatea ca o tumoare malignă să provină dintr-o singură celulă canceroasă a fost demonstrată experimental prin obţinerea cancerului la animalul inoculat cu o singură celulă canceroasă (Furth şi Kohn, 1937).

Factorii care produc mutaţia canceroasă, factorii cancerigeni, sînt foarte numeroşi (după cum au demonstrat cercetările experimentale) în mediul înconjurător şi uneori în organism. Natura lor este de asemenea foarte diferită: fizică, chimică sau biologică. Cei mai caracteristici factori sînt radiaţiile, unele substanţe chimice, în special cele cu structură ciclică, şi, mai ales la animale, virusurile filtrabile şi, mai rar, unii paraziţi. Producerea în exces a unor substanţe de către organism, în special a unor hormoni, poate produce, de asemenea, apariţia de celule canceroase. De multe ori astfel de factori se pot asocia în producerea cancerului. Este foarte verosimil ca apariţia cancerului bronşic să se datorească acţiunii concomitente şi succesive a fumului de ţigară, aerului poluat şi unor infecţii virusale repetate ale căilor respiratorii.

Un argument puternic în sprijinul faptului că factorii cancerigeni produc cancerul prin mecanismul mutaţiei somatice este furnizat de

Scanned with OKEN Scanner

constatarea că mulţi dintre ei au o acţiune teratogenă concomitentă. Ei induc, atunci cînd acţionează asupra unor organisme în dezvoltare, prin intermediul aceluiaşi proces de mutaţie somatică, apariţia de malformaţii. Di Paolo şi Kotin (1966), în special, au subliniat faptul, că acelaşi factor poate să producă malformaţie sau cancer, în funcţie de stadiul de dezvoltare a organismului în momentul expunerii. Astfel, un factor cu acţiune cancerigenă asupra celulelor din organismul matern devine teratogen cînd acţionează asupra unor celule imature, embrionare. Există însă şi cazuri cînd un astfel de agent, acţionînd în perioada fetală, poate produce cancer, dar cancerul devine evident numai după naştere. Coexistenţa anomaliilor congenitale cu tumorile maligne la nounăscuţi sau copii mici ar fi urmarea faptului că, în acelaşi organism, celule pe cale de diferenţiere şi organizare dau naştere malformaţiilor, în timp ce celule mai mature se malignizează, sub acţiunea aceluiaşi factor.

Nu se poate exclude faptul ca unele din mutaţii, în lipsa factorilor menţionaţi, să fie datorate unui proces greşit de diviziune celulară, care duce la o repartizare anormală a materialului genetic. Studiile asupra incidenţei mutaţiilor la organisme unicelulare (bacterii) sau în celulele germinale ale unor organisme pluricelulare, ca şi asupra modului de transmitere a unor boli cu caracter genetic la om au arătat că astfel de mutaţii datorate unor factori intrinseci procesului de diviziune celulară, apar cu frecvenţă de 10^{-8}, deci la 100 milioane de diviziuni celulare, una ar putea duce la mutaţii. Întrucît în organismul uman adult se produc 10^{11}—10^{12} diviziuni celulare zilnic, astfel de mutaţii ar apărea cu o frecvenţă de pînă la 10^{5}, frecvenţă care creşte, după cum au demonstrat cercetările lui Curtis (1963), pe măsura îmbătrînirii organismului. Majoritatea mutantelor celulare provenite astfel sînt deficiente faţă de restul celulelor şi probabil mor. Nu tot astfel se întîmplă cu celulele rezultate din mutaţiile induse de factori cancerigeni, care de multe ori, prin calităţile proliferative conferite de modificările metabolice, prezintă un avantaj de supravieţuire faţă de restul organismului, ceea ce duce la apariţia tumorii maligne.

Astfel conceput, cancerul apare ca un proces complex, cu o etiologie multiplă, dar cu o patogeneză unică, constînd în inducerea de către diverşii factori cancerigeni a unor mutaţii somatice care duc la apariţia de celule canceroase.

Faţă de numărul mare de factori cancerigeni care acţionează în permanenţă asupra organismului, incidenţa tumorilor maligne este surprinzător de mică, mai ales la persoanele tinere. Această constatare justifică presupunerea că, în ciuda avantajului constituit de proliferarea accelerată, trebuie să mai existe şi alte condiţii pentru ca clonele de celule canceroase să poată supravieţui şi produce tumoarea malignă.

Scanned with OKEN Scanner

În mod normal, funcţia de supraveghere imunologică a organismului recunoaşte cu promptitudine şi elimină celulele anormale, inclusiv cele canceroase, apărute în urma unei mutaţii. Acest fenomen se datoreşte faptului că modificarea structurală a aparatului genetic, care stă la baza mutaţiei, se traduce de obicei prin modificări ale structurilor proteice, care corespund unor modificări antigenice: celulele canceroase prezintă de cele mai multe ori deosebiri antigenice faţă de restul celulelor normale. Întrucît de cele mai multe ori mutaţia este efectul modificării secvenţei normale de nucleotide constituente ale acizilor nucleici, consecutiv se produce alterarea secvenţei normale de aminoacizi din lanţurile polipeptidice a căror sinteză este indusă de acizii nucleici respectivi.

Clonele de celule maligne apărute într-un organism în urma unei mutaţii sau a unei succesiuni de mutaţii pot da naştere tumorii maligne numai cînd există o deficienţă a supravegherii imunologice. În mod normal, aparatul de supraveghere imunologică recunoaşte ca străine aceste clone de celule maligne sau pe cale de a deveni maligne, datorită diferenţelor antigenice pe care le prezintă, şi le elimină. Cancerul nu apare decît în organisme cu imunitate deficientă şi se pare că deprimarea în continuare a imunităţii ar permite, într-o etapă ulterioară, diseminarea metastatică a tumorii maligne.

Creşterea progresivă, în funcţie de vîrstă, a incidenţei cancerului după 45—50 de ani s-ar datora unei tendinţe orescute de producere a mutaţiilor somatice şi unei progresive diminuări a capacităţii imunologice a organismului. Studii făcute de Gross (1965), Mackay (1969) şi alţi autori au confirmat progresiva scădere a acestei capacităţi, în special a reacţiilor de imunitate celulară, coincizînd cu clasicele observaţii clinice asupra imunităţii deprimate a persoanelor în vîrstă. Este foarte verosimil ca, peste o anumită vîrstă, organismul să aibă dificultăţi din ce în ce mai mari în suprimarea celulelor mutante, inclusiv a celulelor canceroase.

În concepţia lui Burnet (1967), pierderea eficacităţii imunităţii peste o anumită vîrstă, ducînd la susceptibilitatea crescută la infecţie şi cancer, este de asemenea urmarea acţiunii proceselor determinate ale evoluţiei, care n-au selecţionat o imunitate eficientă la persoanele trecute de perioada reproductivă şi deci indiferente pentru conservarea speciei.

Toate aceste considerente l-au făcut pe Lee-Clark (1962) să se întrebe dacă nu cumva toţi oamenii se îmbolnăvesc de cancer în cursul vieţii lor, poate chiar de mai multe ori, în cele mai multe cazuri leziunea regresînd însă înaintea formării tumorii evidente.

Este interesant că încă în 1909, Ehrlich îşi afirmase convingerea că germeni aberanţi apar în organism adesea în timpul perioadei fetale sau

Scanned with OKEN Scanner

neonatale, dar din fericire rămîn inactivi la majoritatea indivizilor datorită sistemului imun. Dacă această autoprotecție n-ar exista, spunea el, cancerele ar apărea cu o frecvență copleșitoare.

O serie de observații clinice și rezultate experimentale demonstrează că această ipoteză este foarte aproape de realitate și că *tumoarea malignă nu apare decît în organisme cu imunitate deficientă, după cum evoluția ulterioară și în special metastazarea sînt condiționate de starea imunității organismului.*

S-au purtat și se poartă numeroase discuții asupra valabilității teoriei supravegherii imunologice și mai ales a condițiilor în care ea este ineficace, în afară de uzura țesuturilor limfoide, produsă de vîrstă.

După Klein (1973), există numeroase observații, în special în legătură cu tumorile maligne produse la animale de virusuri, care permit concluzia că supravegherea imunologică este foarte eficientă în prevenirea acțiunii cancerigene a virusurilor; acestea ar produce altfel un număr mult mai mare de tumori.

Cît privește eficiența mai redusă în cazul cancerelor produse de alți factori, în special chimici sau fizici, ea s-ar datora condițiilor specifice fiecărui caz în parte, care ar necesita eforturi speciale de adaptare a acestei funcții.

Din domeniul tumorilor produse prin virusuri, Klein se referă în special la boala Marek sau limfomatoza malignă, produsă de un virus herpetic la unele tulpini de pui de găină, la care virusul se transmite vertical de la o generație la alta. În funcție de predispoziția genetică, unii pui fac boala malignă, alții o limfomatoză benignă, alții, în ciuda infecției, nu prezintă simptome patologice. Puii nesusceptibili pot fi făcuți susceptibili la evoluția malignă a infecției prin timectomie neonatală, ceea ce înseamnă că rezistența determinată genetic acționează prin aparatul de supraveghere imunologică. Aceasta acționează împotriva celulelor malignizate și nu asupra virusului, întrucît stimularea sa specifică (prin inoculări de virus herpetic înrudit antigenic, provenit de la curcani) scade incidența tumorilor, fără a reduce nivelul infecției virale.

Alte argumente asupra eficienței supravegherii imunologice sînt furnizate de observațiile asupra virusurilor polioma sau saimiri. Virusul polioma are o puternică acțiune cancerigenă la șoarecii de laborator, cu condiția să fie inoculat în primele 24 de ore după naștere, cînd supravegherea imunologică nu este încă matură. În schimb, șoarecii sălbatici, deși infectați în mare măsură cu virusul, nu fac tumori, datorită probabil acțiunii eficiente a imunității. Deprimarea imunității prin iradiere permite obținerea de tumori de la șoareci de laborator adulți.

În același sens, virusul herpetic saimiri produce tumori maligne limforeticulare la marmote și unele maimuțe, fiind lipsit de patogenitate la

Scanned with OKEN Scanner

maimuța-veveriță. Motivul pare să fie capacitatea de reacție imună rapidă a acestei ultime specii.

În sfîrșit, posibilitatea ca virusul Epstein-Barr să inducă sau nu tumori maligne la om este foarte ilustrativă. În timp ce la copii sau tineri cu imunitate normală, infecția cu acest virus nu produce simptome patologice sau produce mononucleoză infecțioasă, la aceeași categorie de indivizi, cu imunitate deprimată de infecții sau infestații cronice (malarie), virusul produce un limfosarcom caracteristic.

Evidenta eficiență a imunității antitumorale în anumite împrejurări ridică însă problema cauzelor care determină ineficacitatea sa în cele mai multe împrejurări, cînd tumoarea malignă poate apărea sau poate să disemineze metastatic. Aceste cauze ar ține, după Klein (1973), de modificări ale capacității de reacție a organismului, mergînd pînă la dispariția supravegherii imunologice sau de modificări ale celulelor tumorale; unele coincidențe speciale fac supravegherea ineficace în lipsa acestor modificări, după cum același rezultat poate fi urmarea unei interacțiuni defectuoase a diferitelor mecanisme efectoare.

Principalele condiții în care tumoarea malignă poate „scăpa" controlului imunității ar fi următoarele:

1. Depășirea unei imunități normale de către capacitatea proliferativă a unor tumori maligne. Se cunosc unele tumori maligne cu capacitate deosebită de proliferare și diseminare (melanoame, coriocarcinoame, carcinoame bronșice nediferențiate, carcinoame mamare de tip inflamator), unele survenind la tineri și sugerînd analogia cu infecții microbiene foarte virulente, care depășesc cu ușurință capacitatea de reacție a unor organisme normale. Acest lucru pare să fie adevărat în special pentru melanoame și coriocarcinoame, tumori în general dotate cu antigenicitate, față de care există dovezi ale reacției imune a organismului, care, în anumite cazuri, poate deveni eficientă, ducînd la regresiunea lor.

2. Stări de imunodeficiență. Datele experimentale subliniază importanța determinării genetice a imunității în ceea ce privește susceptibilitatea la neoplazie, în special față de tumori virale. Aceste observații sînt confirmate de incidența semnificativ crescută a tumorilor maligne la persoane cu imunodeficiențe congenitale sau dobîndite, în special la pacienții cu transplante renale supuși unei terapii prelungite, imunodepresive. S-a menționat anterior presupusa importanță a scăderii capacității de reacție a persoanelor în vîrstă față de creșterea incidenței cancerului (pe lîngă o susceptibilitate crescută la mutații). Calitățile imunodepresive ale numeroșilor factori cancerigeni subliniază, de asemenea, importanța unei stări de imunodepresie în apariția cancerului.

3. „Furișarea" tumorii pe lîngă o supraveghere imunologică normală. Termenul de „furișare" (*sneaking through*) a fost imaginat de Old și colab. (1962) pentru a descrie fenomenul experimental curios că cele mai

Scanned with OKEN Scanner

antigenice tumori pot supraviețui și crește în organisme histoincompatibile, dacă numărul de celule inoculate este suficient de mic. Un număr foarte mic de celule ar scăpa detecției de către imunitatea eficientă pînă în momentul cînd s-au implantat stabil. Acest aspect, care reprezintă, după Prehn (1971), cea mai serioasă îndoială asupra eficacității supravegherii imunologice este responsabil de creșterea a numeroase tumori net antigenice, în special a celor induse de virusuri. Într-adevăr, creșterea acestora poate fi prevenită dacă, după prima inoculare, se administrează vaccinul respectiv, care ar alarma organismul și ar declanșa reacția imună. Protecția celulelor tumorale ar fi asigurată de factorul vascular. La început, rețeaua capilară a receptorului nutrește celulele tumorale și le separă de imunocite; cînd celulele tumorale își formează propria lor rețea vasculară, aceasta continuă să asigure protecția. Inocularea unei cantități mai mari de celule tumorale produce necroză extinsă și pune în contact aceste celule cu imunocitele, determinînd o reacție imună netă. După ce tumoarea a prins și crește activ, eliminarea ei devine dificilă, după cum transplantarea unei tumori, sub protecția serului antilimfocitar, nu mai este compromisă dacă peste cîtva timp se încetează administrarea serului.

4. Imunorezistența tumorii. Klein (1973) a sugerat posibilitatea ca în unele condiții reacția imună antitumorală să selecționeze sublinii celulare dotate cu o rezistență crescută sau imunorezistente. Fenomenul, evident în cazul tumorilor experimentale induse prin virusuri sau substanțe chimice, presupune mecanisme asemănătoare apariției chimiorezistenței.

5. Scăderea sau lipsa de antigenicitate a celulelor tumorale. Studii efectuate în special pe tumori animale induse chimic l-au determinat pe Baldwin (1974) să confirme o presupunere mai veche, și anume că antigenicitatea unor tumori ar fi mică sau ar lipsi. În cazul acestor tumori, ar exista un raport invers între imunogenicitate și perioada de latență a tumorii: tumorile cu antigenicitate mare pot crește numai dacă au o perioadă scurtă de latență. Există mari deosebiri între antigenicitatea tumorilor produse de diferite antigene și unele (cel puțin cu metodele actuale de studiu) par lipsite complet de antigenicitate; la fel, par lipsite de antigenicitate unele tumori obținute prin malignizarea „spontană" a unor culturi de celule.

Trebuie subliniat faptul că, așa cum în laborator se selectează și se studiază în special tumorile cu antigenicitate pronunțată, în natură se selecționează tumorile cu antigenicitate redusă sau chiar neantigenice. Pierderea antigenicității țesutului tumoral în urma reacției imune a fost demult propusă de Green (1954) ca o explicație a ineficacității, la un moment dat, a reacției imune antitumorale: anticorpii antitumorali sînt prea slabi spre a ucide celulele tumorale, dar, fixîndu-se pe ele, le des-

Scanned with OKEN Scanner

antigenizează sau le maschează antigenii; în lipsa unor antigene evidente, reacţia imună încetează şi tumoarea poate disemina metastatic.

6. Blocarea la diferite niveluri a eficacităţii reacţiei imune antitumorale. În ultimii ani s-au obţinut rezultate foarte interesante, în sensul că acţiunea antitumorală incontestabilă a imunităţii organismului este blocată fie de acţiunea toxică a metaboliţilor tumorali asupra imunocitelor, fie în urma unor interferenţe particulare între antigene, imunocite şi anticorpi. Această problemă va fi expusă în amănunt la capitolul V (imunitatea în organisme cu cancer).

Toate aceste condiţii, demonstrate experimental, încearcă să explice lipsa de eficacitate a supravegherii imunologice în cazurile în care apare cancerul. Realitatea ipotezei lui Burnet va fi demonstrată în mod incontestabil atunci cînd mijloace perfecţionate de investigaţie vor permite punerea la punct a unor metode capabile să suprime clonele de celule tumorale imediat după apariţia lor.

Evidentele raporturi dintre apariţia cancerului şi capacitatea de reacţie imună a organismului i-au determinat pe unii cercetători (Dameshek şi Schwartz, 1959; Green, 1958: Kaplan şi Smithers, 1959; Tyler, 1962) să atribuie acestei reacţii un rol mai direct în carcinogeneză. Mutaţia care produce transformarea malignă determină de multe ori o pierdere de material genetic, care corespunde unei pierderi de antigen. Antigenul pierdut devine străin pentru celulele canceroase, care nu îl mai recunosc cînd îl întîlnesc la nivelul celulelor normale ale organismului. În contact cu aceste celule, celulele canceroase reacţionează după modalitatea de comportare a imunocitelor în contact cu structuri străine, adică prin hiperplazie şi producerea de factori cu acţiune toxică asemănători anticorpilor. Aceasta ar explica proliferarea excesivă a celulelor tumorale şi efectul toxic al tumorii maligne asupra restului organismului. Verosimilă şi din ce în ce mai des confirmată prin observaţii clinice şi experimentale în cazul tumorilor organelor limfoide, formate din celule cu competenţă imunologică, ipoteza este mai greu de admis în cazul carcinoamelor şi sarcoamelor obişnuite, care formează majoritatea tumorilor maligne şi sînt lipsite de o astfel de competenţă.

C. RAPORTURI ÎNTRE IMUNITATEA ANTITUMORALĂ ŞI IMUNITATEA DE TRANSPLANTARE

Raporturile strînse care există între imunitatea antitumorală şi cea de transplantare au fost foarte plastic subliniate de George Klein (1973), care, vorbind despre imunitatea antitumorală la un simpozion de transplantare, a afirmat că „imunologia tumorală este bunica şi, în acelaşi timp, nepoata imunologiei de transplantare".

Scanned with OKEN Scanner

Ele reprezintă domenii noi ale imunologiei, în care s-au făcut mari progrese în ultimii 25 de ani şi oferă perspective de rezolvare a celor două probleme capitale ale medicinii contemporane: terapia eficientă şi raţională a tumorilor maligne şi transplantarea de organe.

Cele două tipuri de imunitate prezintă cel puţin două diferenţe care fac raporturile dintre ele şi mai interesante:

a) Imunitatea antitumorală intervine în condiţii naturale, în timp ce imunitatea de transplant, cu rare excepţii (amestecul de sînge maternofetal, diseminări de vilozităţi coriale), survine numai în condiţii artificiale. S-a menţionat că imunitatea de transplantare ar fi expresia, în condiţii artificiale, a supravegherii imunologice, care în mod natural controlează tumorile maligne.

b) Imunitatea de transplantare reprezintă tipul perfect de reacţie imună, în privinţa eficienţei sale, spre deosebire de imunitatea antitumorală, care reprezintă cea mai redusă eficienţă. Din această cauză, obiectivele principale ale imunologiei sînt cum să se modereze cît mai mult eficienţa imunităţii de transplantare şi cum să se crească eficienţa imunităţii antitumorale.

Dintre aceste aspecte, vom stărui în continuare asupra principalelor caractere ale imunităţii de transplantare (dintre care multe au fost demonstrate pe sisteme tumorale), asupra relaţiei dintre antigenele de transplantare şi unele boli maligne şi asupra unor fenomene imune sau paraimune descoperite de cancerologia experimentală, cu importanţă în imunitatea de transplantare (facilitarea imunologică, inhibiţia alogenică, modificarea imunologică, hibridarea somatică).

1. CARACTERELE GENERALE ALE IMUNITĂŢII DE TRANSPLANTARE

Transplantarea constă în introducerea într-un organism a unor organe sau ţesuturi provenite din alt organism. Prin aceasta se urmăreşte înlocuirea unor organe lezate, cu organe sănătoase. De cele mai multe ori reuşita acestei operaţii, care ar duce la realizarea unei monstruozităţi biologice sau himere (organism cu ţesuturi provenind de la mai mulţi indivizi), este compromisă de eliminarea transplantului de către receptor. Respingerea se datoreşte în primul rînd diferenţelor antigenice dintre ţesuturile donatorului şi receptorului.

În funcţie de aceste diferenţe antigenice, transplantele pot fi clasificate în:

— autotransplante, cînd ţesutul este transplantat în altă regiune a aceluiaşi individ;

— izotransplante (transplante singenice), executate între indivizi identici genetic, histocompatibili, cum sînt animalele de tulpină pură sau gemenii umani monovitelini;

Scanned with OKEN Scanner

— alotransplante (homotransplante), realizate între indivizi de aceeaşi specie, diferiţi antigenic;

— xenotransplante (heterotransplante), între indivizi de specii diferite.

În contrast cu autotransplantele sau izotransplantele, care sînt tolerate, alotransplantele sau xenotransplantele sînt în mod normal eliminate printr-o reacţie de respingere.

Natura imună a fenomenului de eliminare a transplantului este demonstrată de caracterul specific şi anamnestic al reacţiei: după eliminarea unui transplant histoincompatibil într-un anumit interval de timp (reacţie primară), repetarea aceluiaşi transplant duce la o reacţie de eliminare precoce (reacţie secundară). Limfocitele mici par să aibă un rol esenţial în eliminarea transplantului, întrucît necroza şi eliminarea lui este precedată de o infiltraţie limfoidă. Inocularea unui animal cu limfocite de la alt animal, care a eliminat un transplant, îi conferă primului proprietatea de a elimina printr-o reacţie accelerată, secundară, ţesutul cu care vine prima dată în contact; deci limfocitele reprezintă substratul celular esenţial al imunităţii de transplantare. De fapt, suprimarea limfocitelor prin diferite metode (iradiere, corticoterapie, citostatice, ser antilimfocitar) face un organism tolerant faţă de un ţesut incompatibil. În acelaşi timp, după eliminarea unui transplant, creşte titrul de anticorpi faţă de ţesutul respectiv.

Antigenele care determină reacţia de transplant se numesc *antigene de histocompatibilitate*. Ele se găsesc pe suprafaţa tuturor celulelor nucleate, au o structură polipeptidică şi reprezintă transcrierea directă a genelor de histocompatibilitate. În funcţie de intensitatea reacţiei de respingere a transplantului, se împart în antigene puternice, care determină eliminarea grefei în mai puţin de 14 zile, şi antigene slabe, care determină un fenomen lent de respingere mergînd pînă la 200 de zile.

Determinarea genetică a histocompatibilităţii a fost întrevăzută de Little în 1914; el a susţinut necesitatea existenţei unor factori de susceptibilitate, determinaţi de gene speciale, care trebuie să fie prezenţi atît la donator, cît şi la receptor pentru ca transplantul să fie acceptat.

Existenţa antigenelor de histocompatibilitate şi caracterul mendelian al transmiterii genelor care le prescriu au fost demonstrate experimental de Snell, în 1948, care a lucrat cu transplante de tumori maligne pe linii pure de animale de laborator. Aceste animale sînt identice genetic sau izogene în urma încrucişării timp de cel puţin 50 de generaţii a descendenţilor aceleiaşi perechi; ele tolerează reciproc transplantele de ţesuturi sau organe.

Lucrările lui Snell au stabilit legile generale ale transplantării, valabile pentru transplantele de ţesut normal, dar care uneori sînt eludate

Scanned with OKEN Scanner

tocmai de transplantele tumorale, datorită proprietăţilor speciale ale ţesutului tumoral.

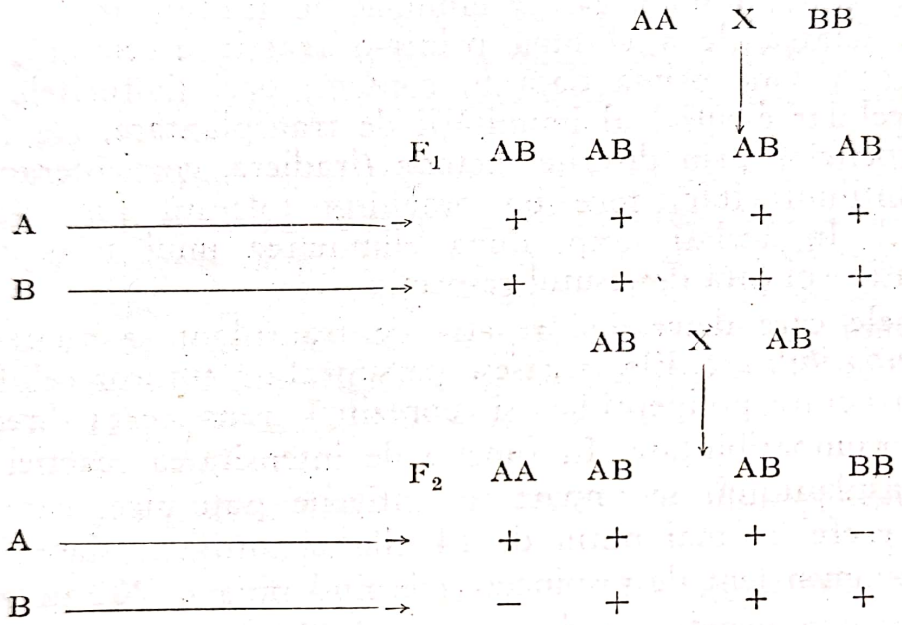
1. Transplantele între indivizi identici genetic (izogeni) sînt întotdeauna tolerate.

2. Transplantele între indivizi diferiţi genetic (alogeni) sînt întotdeauna respinse.

3. Hibrizii din prima generaţie (F_1) tolerează transplante provenind de la ambii părinţi.

4. Hibrizii din a doua generaţie (F_2) tolerează numai parţial, datorită segregării antigenelor de histocompatibilitate, transplantele de la hibrizii F_1 sau de la părinţi.

Notînd cu A şi B cele 2 linii pure de animale între care se execută transplantele, legile lui Snell pot fi exprimate schematic în felul următor:



Transplantul este deci tolerat numai dacă nu conţine antigene de histocompatibilitate diferite de ale receptorului.

Fiecare genă de histocompatibilitate este formată dintr-o pereche de alele, una de origine paternă, cealaltă de origine maternă şi are o localizare precisă pe un anumit cromozom, numită *locus* sau loc. Fiecare specie posedă un număr limitat de gene puternice de histocompatibilitate, care formează complexul de histocompatibilitate majoră şi determină reacţii puternice de respingere. Acest complex este localizat de obicei pe acelaşi cromozom, corespunzînd cu locul H-2 la şoarece, sistemul HL-A la om, Ag-B (H-1) la şobolan, B la găină, RhL-A la maimuţa rhesus, DL-A la cîine. Pe lîngă aceasta, există un număr variabil de locuri care determină antigene de transplantare mai slabe, care contribuie însă şi ele la inducerea fenomenelor de respingere a transplantului.

La şoarece, utilizarea liniilor pure a permis identificarea a cel puţin 15 asemenea locuri. Locul H-2 determină antigene puternice de histocompatibilitate, prezente în cantitate mare pe suprafaţa limfocitelor sau în piele, mai puţin în ficat, plămîni şi rinichi şi în cantităţi reduse în creier şi muşchii scheletici. Un rol important au şi locurile H-1, H-3 sau H-4, care prescriu antigene de histocompatibilitate ceva mai slabe. La şoarece s-a pus în evidenţă şi histocompatibilitate legată de sex, gena respectivă fiind localizată pe cromozomul Y (antigen H-Y) şi putînd determina respingerea unui transplant izogen provenit de la mascul de către o femelă. Ulterior, astfel de antigene legate de cromozomul Y au fost puse în evidenţă şi la alte mamifere (şobolan, cobai, iepure, vacă, om), ca şi la păsări şi amfibii. Stabilitatea filogenetică a acestui antigen şi constanta sa asociere cu cromozomul Y îi atribuie un rol important în determinarea primară a sexului (Sylvers şi Wachtel, 1977).

Corespunzător sistemului H-2 al şoarecelui, la om există sistemul HL-A (*human leukocyte antigens*), care induce reacţii puternice de transplantare, pe lîngă sistemul ABO care determină compatibilitatea eritrocitelor. Denumirea sistemului provine de la faptul că antigenele respective sînt în special exprimate pe suprafaţa leucocitelor. Descoperirea lui, legată în special de numele lui Dausset şi Van Rood, a fost posibilă datorită unor laborioase cercetări în cursul cărora s-a utilizat cu predilecţie reacţia serurilor faţă de leucocite; de aici rezultă şi denumirea de antigene definite serologic (SD). Antigenele SD se clasifică în „scurte" şi „lungi", după cum reacţionează numai cu serul strict specific sau şi cu alte seruri. Aceasta sugerează că în structura antigenelor lungi sînt incluse unele antigene scurte, sub formă de unităţi separate în cadrul aceleiaşi molecule. Antigenele scurte, nemaiputînd fi divizate, se numesc şi antigene de bază.

Evidenţierea antigenelor SD pe suprafaţa leucocitelor se obţine tratînd aceste celule cu seruri umane. Complexul antigen-anticorp rezultat apare sub forma unei scufii (cap) pe suprafaţa leucocitelor, care poate fi făcută fluorescentă prin tratare cu ser anti-Ig umană conjugat cu substanţă fluorescentă. Localizarea independentă a diferitelor antigene pe suprafaţa leucocitelor poate fi demonstrată prin această metodă.

Pentru descifrarea antigenelor SD, s-au obţinut antiseruri polispecifice de la persoane care au primit transfuzii repetate, de la indivizi imunizaţi în mod intenţionat prin transplante repetate de piele sau inoculări de leucocite, de la pacienţi care au eliminat organe transplantate sau de la femei care au purtat sarcini cu paternitate diferită. Loturi de aproximativ 100 astfel de seruri au fost testate prin reacţii de aglutinare cu leucocite provenite de la sute de donatori luaţi la întîmplare. Compararea rezultatelor obţinute cu fiecare ser, la calculator electronic, cu rezultatele obţinute cu celelalte seruri a permis clasificarea fiinţelor umane

Scanned with OKEN Scanner

într-un număr relativ mic de grupuri de histocompatibilitate. Actualmente s-au preparat seruri aglutinante monospecifice de cimpanzeu şi se experimentează prepararea unor seruri de macac şi iepure.

Aceste metode, ca şi studiile de transmisiune familială a antigenelor de histocompatibilitate, au permis să se definească sistemul HL-A ca fiind format din cel puţin două locuri alăturate, considerate de către unii specialişti sublocuri. Fiecare loc determină două antigene diferite din vreo 32 posibile. Din combinarea celor patru antigene prescrise de cele două locuri rezultă cel puţin 4 000 de combinaţii antigenice diferite. Faptul a fost verificat experimental, la 500 de indivizi luaţi la întîmplare putînd să nu se întîlnească nici un caz de histocompatibilitate. Există în schimb perspectiva ca un individ să fie histocompatibil cu unul din cei patru fraţi ai săi, după cum se poate întîlni histocompatibilitate printre rudele apropiate ale unui individ. Pentru reuşita transplantării la om se cere identitate sau cel puţin similaritate în privinţa celor patru antigene prescrise de sistemul HL-A. Ulterior s-a pus în evidenţă o a treia pereche de antigene SD, prescrise de un al treilea loc.

În 1973, Bo Dupont, în lipsa unui donator HL-A corespunzător, a executat un transplant de măduvă hematogenă la un copil cu imunodeficienţă combinată gravă, transplant obţinut de la o rudă apropiată (unchi) ale cărui limfocite nu reacţionau, în culturi mixte, cu cele ale pacientului. Reuşita transplantării a permis concluzia că la om mai există cel puţin încă o genă majoră de histocompatibilitate, care prescrie antigene ce pot fi determinate prin culturi mixte de limfocite şi numite din această cauză, antigene LD.

În conformitate cu observaţiile făcute pînă în 1976, după Fritz Bach şi van Rood, complexul uman de histocompatibilitate majoră, complexul HL-A, este format din trei locuri denumite A, B, şi C, care prescriu 6 antigene SD. Există şi un al patrulea loc, locul D, care prescrie două antigene LD. Cele patru locuri sînt situate pe o anumită zonă a aceluiaşi cromozom, în strînsă legătură cu genele care controlează desfăşurarea reacţiilor imune (genele Ir) şi susceptibilitatea la anumite boli.

Această diversitate a antigenelor de histocompatibilitate, care face animalele superioare — cu excepţia liniilor pure de laborator —, să-şi respingă reciproc transplantele, este pusă de Burnet (1969), de asemenea, pe seama unui proces de mutaţie somatică. Se pare că genele de histocompatibilitate prezintă o apreciabilă tendinţă la mutaţii compatibile cu viaţa. Selecţia naturală a favorizat indivizii histoincompatibili, ferindu-i de inoculări cu celule maligne de la alţi indivizi, fenomen posibil în condiţiile de viaţă ale celor mai multe animale.

Reacţia de eliminare a transplantului reprezintă cel mai perfect model de reacţie imună şi permite studiul eficacităţii limfocitelor la nivelul ţesutului pe cale de eliminare, ca şi studiul modificărilor care au loc în

Scanned with OKEN Scanner

organele limfoide, în special în ganglionii regionali. Transplantul cutanat incompatibil este eliminat în cel mult 12 zile, constituind ceea ce se numeşte o reacţie primară. După cîteva zile, în care transplantul îşi creează legături vasculare şi face impresia că a prins, apare infiltrarea lui cu limfocite, macrofage şi plasmocite, apoi se necrozează şi se elimină. Transplantarea aceluiaşi ţesut la acelaşi receptor duce la o respingere mai rapidă, constituind reacţia secundară. Supravieţuirea transplantului poate fi obţinută prin deprimarea imunităţilor receptorului sau imunosupresie prin metodele amintite anterior.

Experimental se poate obţine supravieţuirea unui transplant incompatibil prin inducerea unei toleranţe imunologice. Cea mai interesantă metodă este introducerea celulelor incompatibile în organismul receptor înainte de naştere, ceea ce determină înscrierea lor în codul de autorecunoaştere şi tolerarea lor după naştere. Inducerea de anticorpi facilitanţi, care se fixează pe antigene, mascîndu-le fără să distrugă celula respectivă, reprezintă de asemenea o metodă de inducere a toleranţei, în special pentru ţesuturi tumorale.

Două aspecte particulare ale imunităţii de transplantare permit o mai bună înţelegere a imunităţii antitumorale, şi anume reacţia grefă-contra-receptor şi sarcina.

2. REACŢIA GREFĂ-CONTRA-RECEPTOR

Reacţia grefă-contra-receptor (*graft-versus-host response*) constă în agresiunea unui transplant de ţesut imunocompetent asupra unui donator lipsit de competenţă imunologică.

Experimental, reacţia — studiată pe tulpini pure de animale, în special şoareci — se obţine prin inoculare de limfocite sau măduvă hematogenă la animale cu imunitatea deprimată prin diferite metode (iradiere, corticoterapie, citostatice, ser antilimfocitar, timectomie neonatală, fistulă cronică de canal toracic). Animalele prezintă oprire în dezvoltare, slăbire, căderea părului, anemie hemolitică, splenomegalie, expresie clinică a aşa-numitei boli omoloage sau alogenice. La animalele nou-născute, oprirea în dezvoltare fiind pe primul plan, se vorbeşte de boală pitică (*runt disease*). Splenomegalia permite o apreciere cantitativă a agresiunii (fenomenul Simmonsen). Cînd histocompatibilitatea ţine de sistemul H-2, duce de obicei la moarte. O expresie experimentală elegantă a fenomenului este inocularea de limfocite pe membrana corioalantoidiană a oului germinat, organism lipsit de competenţă imunologică, unde fiecare imunocit determină o leziune evidentă.

În clinică, fenomenul constituie riscul transplantelor de măduvă histoincompatibilă la pacienţi cu boală gravă de iradiere, imunodeficienţe, leucemii sau insuficienţe medulare. Reprezintă obstacolul principal al

Scanned with OKEN Scanner

unei imunoterapii adoptive a tumorilor maligne, metodă preconizată în special de Woodruff (1963). Reacţia se traduce prin febră, pierdere în greutate, erupţii cutanate, diaree, splenomegalie, anemie hemolitică. Cînd histoincompatibilitatea ţine de sistemul HL-A, aşa cum se întîmplă de cele mai multe ori, boala este de obicei fatală.

Se presupune că reacţia grefă-contra-receptor este responsabilă şi de alte stări patologice. Unele cazuri de moarte intrauterină a fătului sau de agenezii ale organelor limfoide ar putea fi urmarea agresiunii limfocitelor materne pătrunse în circulaţia fetală. Limfogranulomatoza Hodgkin ar fi de asemenea, după Green (1958), expresia clinică a unei situaţii asemănătoare: pătrunderea limfocitelor materne în organismul fetal duce la început la stabilirea unei toleranţe reciproce, care se poate menţine toată viaţa. Uneori însă, ruperea din diferite motive a acestui echilibru ar determina agresiunea grefei împotriva receptorului, generînd boala.

Tumoarea malignă prezintă o mare analogie de comportare cu grefa care atacă receptorul, în sensul că proliferează şi atacă un organism cu imunitate deprimată. S-a menţionat anterior opinia unor autori, după care tumoarea malignă, asemeni grefei de celule imunocompetente, reacţionează faţă de restul organismului (devenit diferit antigenic) prin hiperplazie şi producere de substanţe toxice în genul anticorpilor.

3. RAPORTURI IMUNE ÎNTRE MAMĂ ŞI FĂT

Teoretic, fătul, posedînd antigene de histocompatibilitate diferite de ale mamei, reprezintă de fapt un alotransplant. Din această cauză, imunologii au fost preocupaţi să explice mecanismele prin care acest ţesut incompatibil este tolerat de organismul matern. De fapt, Lewis Thomas a sugerat, încă din 1959, că expulsia ar fi declanşată de mecanisme imunologice, asemănătoare oarecum reacţiei de respingere a transplantelor. După acest autor, una din cauzele determinante ale apariţiei imunităţii adaptative ar fi tocmai necesitatea evitării permanentizării stării de parazitism a fătului. Ipoteza nu poate explica mecanismul declanşării expulsiei la animalele de linie pură, unde sarcina este histocompatibilă.

S-au dat mai multe explicaţii lipsei de reacţie imunologică a mamei timp de nouă luni faţă de un individ ale cărui ţesuturi le va respinge după naştere. Imaturitatea antigenică a ţesuturilor fetale este contrazisă de respingerea acestor ţesuturi cînd sînt transplantate cutanat. Un anumit grad de depresie imunologică a mamei a fost invocat, în acord cu sensibilitatea crescută faţă de anumite infecţii, în special virale (poliomielită) în cursul sarcinii, la care ar contribui producţia crescută de hormoni steroizi; nu se constată însă nici o diminuare a capacităţii de reacţie faţă de eritrocitele alogenice ale fătului.

Scanned with OKEN Scanner

O imunodepresie locală, la nivelul contactului dintre trofoblast şi deciduă ar putea fi datorată secreţiei abundente de gonadotrofină, după cum se atribuie un rol protector (de mascare a antigenicităţii) stratului de glicoproteine de la suprafaţa celulelor de pe suprafaţa vilozităţilor coriale. Foarte interesantă este ipoteza după care fuziunile celulare şi nucleare care s-ar produce, în fazele precoce ale implantării oului, între trofoblast şi mucoasa uterină, cu realizarea unui fenomen de hibridare somatică, ar implica tolerarea celulelor hibride ale trofoblastului de către mamă.

În anumite cazuri se poate demonstra însă o incontestabilă agresiune imunologică a mamei contra fătului, evidenţiată prin metode de hemaglutinare şi imunofluorescenţă, responsabilă de unele accidente ale sarcinii. În mod normal, în sarcină, după Prehn (1972), s-ar produce numai o reacţie imună blîndă, al cărei rol este să stimuleze diferenţierea ţesuturilor fetale şi care numai accidental ar deveni dăunătoare. Acest tip de reacţie s-ar întîlni şi în organisme cu cancer şi ar fi responsabilă de efectul mai degrabă stimulant decît nociv al imunităţii la aceşti pacienţi. Analogia sarcinii cu tumoarea malignă este subliniată şi de posibilitatea ca toleranţa fătului să fie produsă de anticorpi sau factori blocanţi, asemănători celor descrişi de soţii Hellström (1968) în special la pacienţii cu cancer, anticorpi responsabili de ineficacitatea reacţiei imune antitumorale la aceşti pacienţi.

4. RAPORTURI ÎNTRE ANTIGENELE HL-A ŞI ANUMITE FORME DE TUMORI MALIGNE

În ultimii ani s-au acumulat observaţii asupra frecvenţei semnificativ crescute a unor boli printre indivizii purtători ai anumitor antigene HL-A. Printre acestea se numără şi două boli maligne, limfomul Hodgkin şi leucemia limfatică acută. După observaţia lui Amiel (1967) asupra apariţiei frecvente a bolii Hodgkin la indivizi purtători ai antigenului HL-A 4c (W5), alţi cercetători au găsit o frecvenţă crescută a antigenelor HL-A1 şi HL-A8 printre pacienţii cu această boală. Incidenţa celor trei antigene este de respectiv 25, 39 şi 26% printre pacienţii cu limfom Hodgkin, faţă de 16, 32 şi 22% la restul populaţiei. În cazul leucemiei limfatice acute, antigenul HL-A2 survine cu o frecvenţă de 63%, faţă de 37% la restul populaţiei.

Asocierea cu anumite antigene de histocompatibilitate survine şi în alte boli, toate avînd o patogeneză sau o presupusă patogeneză autoimună (spondilita anchilozantă, boala Reiter, uveita anterioară acută, boala Graves-Basedow, boala celiacă, dermatita herpetiformă, miastenia gravă, lupusul eritematos, scleroza multiplă, hepatita cronică, boala fînului). În spondilită, uveita anterioară sau boala celiacă, asocierea cu

Scanned with OKEN Scanner

un anumit antigen survine cu o frecvență de respectiv 90, 76, 55 și 78%, în comparație cu 7, 6, 8 și 24% la restul populației.

Asocierea anumitor antigene de histocompatibilitate cu bolile imune ar putea fi explicată prin raporturile dintre gena care controlează antigenul respectiv și genele de reacție imună (RI), gene care controlează reacțiile imune implicate în apariția acestor boli. Aceste gene determină probabil receptorii specifici de recunoaștere a antigenului de la suprafața limfocitelor T. S-au propus și alte explicații ale fenomenului. Astfel, antigenele de histocompatibilitate ar putea servi ca receptori pentru anumite virusuri sau alți agenți patogeni. Acești agenți s-ar putea integra cu ușurință în special la nivelul membranei celulare care poartă un anumit antigen de histocompatibilitate. În sfîrșit, antigenele de histocompatibilitate ar putea induce toleranță față de anumiți agenți cu a căror structură prezintă analogie.

La șoarece, s-a putut stabili, de asemenea, o legătură între anumite antigene determinate de sistemul H-2 și unele boli autoimune (tiroidita autoimună) sau virale (coriomeningita limfocitară) sau susceptibilitatea la leucemie virală. Asocierea, în cazul tiroiditei autoimune, între un anumit antigen de transplantare, o reacție imună specifică (antitireoglobulină) și gradul de severitate al bolii sugerează că legătura dintre genele de histocompatibilitate și genele reacției imune trebuie să joace un rol important în producerea bolii, prin anumite particularități ale receptorilor limfocitelor. T. *Raportul gene de histocompatibilitate/gene ale reacției imune apare ca un factor important în determinarea susceptibilității genetice* sau rezistenței la cancer, autoimunitate sau infecție (Mc Devitt și Bodmer, 1974).

Faptul că nu toți indivizii purtători ai unui antigen de histocompatibilitate fac boala respectivă s-ar explica prin lipsa contactului tuturor purtătorilor genotipului respectiv cu factorul etiologic viral sau de altă natură, ca și prin intervenția altor gene, nelegate de sistemul de histocompatibilitate, în determinarea susceptibilității la boală; s-ar putea și ca anumite recombinări să rupă la unii indivizi asocierile dintre genele de histocompatibilitate și de reacție imună. Dimpotrivă, lipsa antigenelor de histocompatibilitate la unii pacienți s-ar datora heterogenicității etiologice a bolii respective.

5. ASPECTE PARTICULARE ALE IMUNITĂȚII DESCOPERITE PE SISTEME TUMORALE

a. **Facilitarea imunologică.** Facilitarea imunologică, numită de autorii de limbă engleză „enhancement", este un fenomen paradoxal, observat încă de la începutul secolului. El constă în faptul că un tratament prealabil cu extract tumoral total mărește susceptibilitatea

Scanned with OKEN Scanner

animalelor la tumoarea respectivă, care creştea mai repede la animale susceptibile sau prindea la animale rezistente. Injectarea extractului, contrar aşteptărilor, facilita sau exalta creşterea tumorii. Toleranţa indusă la un animal putea fi transplantată altui animal prin injectarea serului primului, demonstrîndu-se astfel că fenomenul este produs de anticorpi. Studiul acestor anticorpi facilitanţi, lipsiţi de acţiune citotoxică, a arătat că ei sînt imunoglobuline G. Au fost puse de asemenea, în evidenţă posibilitatea ca în anumite condiţii (în concentraţii mari), anticorpii facilitanţi să devină citotoxici, specificitatea lor pentru anumite antigene, care poate fi măsurată prin metode de imunofluorescenţă, şi aviditatea lor pentru antigenele de pe suprafaţa celulelor tumorale.

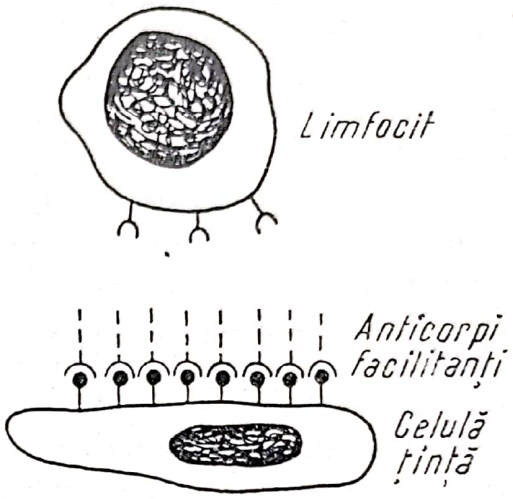


Fig. 7. — Schema fenomenului de facilitare imunologică.

Mecanismul a fost explicat în mai multe feluri (fig. 7):

(1) anticorpii facilitanţi exercită o inhibiţie centrală printr-un fenomen de *feedback* care împiedică producerea de noi anticorpi;

(2) facilitarea interferează calea aferentă a reacţiei imune: blocarea antigenelor cu anticorpi facilitanţi împiedică stimularea în continuare a acestei reacţii;

(3) calea eferentă a reacţiei imune este blocată de anticorpii facilitanţi care, fixîndu-se pe suprafaţa antigenelor, le protejează de acţiunea anticorpilor litici. În acest sens, anticorpii facilitanţi se aseamănă cu anticorpii blocanţi.

S-a sugerat că facilitarea sau citoliza ar depinde de densitatea antigenelor pe suprafaţa celulelor tumorale, după cum s-a atribuit fenomenului o condiţionare genetică. În funcţie de predispoziţia ereditară, un organism ar produce mari cantităţi de anticorpi citolitici şi mici cantităţi de anticorpi facilitanţi şi tumoarea regresează. În situaţia inversă, „creşterea tumorii este facilitată". Influenţarea acestui raport, în care intervin şi limfocitele T, reprezintă o problemă importantă a cancerologiei experimentale. Existenţa unui astfel de raport, între acţiunea citolitică sau facilitantă a aceleiaşi reacţii imune, subliniază existenţa unor nepotriviri care pot apărea în cursul unei reacţii de acest fel, ca şi cum reacţiile de imunitate celulară şi alte mecanisme mai primitive de eliminare a unor celule aberante, diferite antigenic, ar fi fost jenate de apariţia anticorpilor. Cel puţin în cazul tumorilor maligne, cele două modalităţi majore de reacţie imună, celulară şi umorală, apar insuficient sincronizate spre a le distruge.

Scanned with OKEN Scanner

S-a subliniat în ultimul timp importanţa facilitării în evoluţia tumorilor (Harris şi Sinkovits, 1970). De exemplu, facilitarea ar putea contracara acţiunea citostaticelor, mai ales în leucemie. Experimental, s-a obţinut protecţia celulelor leucemice prin inoculări prealabile de antigen de virus leucemogen.

În experienţele lui Molomut (1963), inducerea unui fenomen de facilitare, asociat cu corticoterapie, a permis obţinerea de metastaze prin transplantarea unor tumori care de obicei nu metastazau. În trecerile ulterioare, acest rezultat se obţinea şi în lipsa corticoterapiei, sugerînd că prin acest procedeu s-a obţinut o diminuare a antigenicităţii tumorii. Facilitatea ar selecţiona celule tumorale cu antigenicitate scăzută, deci mai bine tolerate, capabile să metastazeze. Corelînd aceste rezultate cu observaţiile asupra diminuării antigenicităţii ţesutului neoplazic în fazele avansate ale cancerului, Molomut a emis ipoteza că în condiţii naturale, fenomenul de facilitare ar avea un rol important în tolerarea celulelor tumorale de către organism şi în producerea metastazelor. Fenomenul ar fi analog adaptării bacteriilor la acţiunea anticorpilor organismelor parazitate.

În măsură mai redusă, fenomenul de facilitare poate să intervină crescînd şansele de supravieţuire a unor transplante incompatibile de ţesut normal. La şoarece, fenomenul a putut fi obţinut chiar cînd era vorba de histocompatibilitate determinată de locul H-2. Se pare că în aceste cazuri este vorba de o densitate scăzută a antigenelor pe suprafaţa celulelor, asociată cu o producţie redusă de anticorpi citolitici şi cantităţi mici de complement.

Facilitarea imunologică trebuie totdeauna luată în considerare, cînd se interpretează mecanismele toleranţei ţesutului tumoral. Ea reprezintă eventualitatea care trebuie evitată în încercările de imunoterapie a cancerului.

b. **Modificarea imunologică.** Modificarea imunologică este un mecanism de supravieţuire a unor celule sau ţesuturi într-un organism histoincompatibil prin modificarea antigenicităţii, în primul rînd a expresiei fenotipice a genelor de histocompatibilitate. Întrucît fenomenul se poate pune în evidenţă într-o varietate de sisteme experimentale, Barbara Jacob şi Delta Uphoff (1974), care l-au studiat cu atenţie, îl consideră un mecanism biologic de bază al supravieţuirii în astfel de condiţii.

O supravieţuire prin modificarea antigenicităţii se poate obţine prin *cultivare prelungită in vitro*, prin *expunere la anticorpi specifici* sau *treceri repetate prin receptori areactivi*. Supravieţuirea unui transplant incompatibil poate fi obţinută şi prin *expunerea repetată a receptorului la transplantul respectiv*.

Scanned with OKEN Scanner

Experienţele au arătat că, în ceea ce priveşte *modificările antigenice care survin în cursul cultivării prelungite in vitro,* după o adaptare iniţială la mediu, liniile celulare îşi menţin în general caracterele antigenice, ca şi alte caractere, timp de mai mulţi ani. Pierderea şi apoi reapariţia anumitor caractere citologice denotă că modificările care pot apărea în astfel de împrejurări ţin mai degrabă de modificarea expresiei fenotipice, decît de selecţionarea unor linii celulare diferite genetic. Fenomenul aminteşte pierderea aparentă a anumitor antigene fetale după naştere, cu reapariţia lor în cazul transformării maligne, demonstrînd că fusese pierdută doar expresia lor fenotipică. În acest sens, s-a putut obţine şi aspectul invers al pierderii alfa-fetoproteinei de către celule de hepatom cultivate *in vitro,* cu reapariţia ei, cînd aceste celule sînt reinoculate la animale singenice. Există în literatură mai multe observaţii în legătură cu modificarea antigenicităţii unor celule prin cultivare prelungită *in vitro.* Dintre acestea, cea mai interesantă este cea a lui Oplez şi Terasaki (1974) asupra unei linii de limfocite umane, care prin cultivare prelungită şi-au pierdut calităţile antigenice, fiind tolerate de receptori alogenici, dar păstrîndu-şi capacitatea de a reacţiona imunologic. Aceste rezultate deschid perspective interesante atît în transplantarea de organe, cît şi în imunologia cancerului.

În acelaşi an, s-au purtat multe discuţii asupra lipsei de reproductibilitate a lucrărilor lui Summerlin şi Good (1973), cu privire la pierderea histocompatibilităţii fragmentelor de piele prin cultivare prelungită *in vitro.* Metoda rămîne totuşi în centrul preocupărilor de ameliorare a tehnicilor de transplantare.

La protozoare, ca şi la organisme superioare, inclusiv la mamifere, o *diminuare a histocompatibilităţii* a putut fi obţinută prin expunere la seruri specifice. Caracterul fenotipic al acestor modificări reiese din asocierea lor cu modificări citoplasmatice, sugerînd în special la organismele inferioare, că antigenii reactivi serologic ar putea fi sub un control citoplasmatic. Acest control citoplasmatic al expresiei genetice n-a putut fi însă demonstrat în mod convingător pe celule de mamifere.

Diminuarea antigenicităţii unui ţesut se poate obţine şi prin *transplantare repetată la donatori puţin reactivi sau areactivi,* în special la donatori înrudiţi (hibrizi F_1). S-a obţinut de asemenea o relativă adaptare, prin transplantare la nivelul aşa-numitelor locuri privilegiate, cum este camera anterioară a ochiului.

În sfîrşit, o creştere a toleranţei unui transplant incompatibil s-a obţinut şi prin *expunerea repetată a receptorului la transplantul respectiv.* Tratarea prealabilă a unor celule imunocompetente cu antigenele unui anumit organism diminuează apreciabil intensitatea reacţiei grefă-contra-receptor, obţinută prin inocularea acestor celule în organismul respectiv. Imunogenicitatea unor tumori a fost substanţial scăzută prin

Scanned with OKEN Scanner

treceri scurte prin organismul receptor. Aceste treceri scurte *in vivo* au produs modificări similare celor obținute prin cultivare *in vitro*.

Toate aceste metode de modificare imunologică, de modificare a histocompatibilității unor țesuturi normale sau tumorale deschid perspective de ameliorare a supraviețuirii țesuturilor normale transplantate, de cultivare a diferite linii tumorale și de mai bună înțelegere a raporturilor imunologice dintre mamă și făt.

c. **Inhibiția alogenică.** Inhibiția alogenică sau simpatia singenică este un fenomen de rezistență față de țesuturi incompatibile, descoperit de soții Hellström (1966). Cultivarea *in vitro*, în același recipient, a două linii celulare (limfocite sau celule tumorale), puse în contact intim prin acțiunea fitohemaglutininei sau a unei imunoaglutinări, duce la creșterea normală a celulelor respective, dacă ele sînt izogenice (histocompatibile), sau la inhibiție reciprocă, mergînd pînă la citoliză, dacă sînt alogenice (histoincompatibile). Natura imună sau cel puțin convențional imună a fenomenului este contrazisă de faptul că el poate fi reprodus și cu celule lipsite de competență imunologică cum sînt celulele tumorale (Möller, 1966). Raportul direct între intensitatea inhibiției și gradul de histocompatibilitate (Möller a lucrat cu linii celulare tumorale H-2 incompatibile) subliniază legătura acestui fenomen cu imunitatea convențională. Descoperită pe celule de origine murină, inhibiția alogenică a fost pusă în evidență și pe sisteme celulare umane, apărînd deci ca un fenomen probabil general. După cum s-a mai menționat, ea ar constitui persistența la animale superioare a funcțiilor primitive de diferențiere a structurilor proprii de cele străine, comună tuturor organismelor vii. Fenomenul apare legat de diferența de structură a membranelor celulelor incompatibile: inducerea lui este condiționată de un contract intim între celule, care trebuie să se prezinte sub formă de celule izolate, și nu în fragmente de țesuturi. Tratarea prealabilă cu un ser specific suprimă inhibiția, anticorpii mascînd probabil zonele de incompatibilitate structurală. Sistemele de celule limfoide sînt cele mai convenabile pentru studiu, datorită atît bogăției acestor celule în antigene, cît și mobilității lor exprimate, care permite un contact intim. Inhibiția alogenică și-ar păstra oarecare importanță și la organismele superioare. Ea ar putea produce, de exemplu, eliminarea celulelor anormale, diferite antigenic, care apar într-un organism în urma mutațiilor somatice. În acest sens, ar avea rol în eliminarea celulelor canceroase, acționînd chiar înaintea imunității obișnuite. Apariția unei tumori maligne ar presupune în prim timp evitarea inhibiției alogenice, eventual printr-o scădere a antigenicității, prin contactul cu celulele învecinate, antigenic diferite. Uneori acest contact duce la scăderea antigenicității celulelor normale. S-ar explica astfel observația lui Amos (1965) asupra diminuării anti-

Scanned with OKEN Scanner

genelor de histocompatibilitate în țesuturile normale (piele, limfocite) la pacienții cu forme avansate de cancer.

Reducerea numărului celulelor unui organism în cursul îmbătrînirii ar putea fi, parțial, urmarea eliminării celulelor anormale (mutante sau lezate) de către inhibiția alogenică. Ca și imunitatea, inhibiția alogenică ar fi o expresie a fenomenului general, conform căruia celulele nu se pot asocia în organisme viabile decît dacă prezintă o identitate structurală, mai ales de suprafață.

d. **Hibridarea somatică.** Realizarea hibridării somatice reprezintă o interesantă performanță experimentală care reușește să învingă incompatibilitatea reciprocă dintre celule diferite antigenic. Fenomenul constă în fuzionarea artificială, în culturi de țesuturi, a unor celule diferite, histoincompatibile, rezultînd hibrizi cu material nuclear heterogen sau heterocarioni.

Primii hibrizi au fost obținuți în 1960 de Barski, în urma cultivării simultane a două linii celulare distincte, linia N1 de celule canceroase și linia N2 de celule normale, diferite biologic și cariologic. Prin această cultură mixtă, el urmărea să obțină schimburi de material genetic cu modificări consecutive ale caracterelor ereditare. Rezultatele au depășit așteptările, întrucît schimbul de informație genetică prevăzut s-a produs pe o scară largă prin fuziune celulară și integrarea materialului nuclear al celor două linii celulare în nucleul unor celule hibride. Aceste celule au putut fi menținute în cultură și fenomenul reprodus sub formă de diverse combinații între linii celulare singenice sau alogenice.

Experiența inițială a fost favorizată de faptul că celulele hibride creșteau mult mai repede decît celulele parentale N1, de care puteau fi izolate *in vitro;* inocularea lor ulterioară la animale permitea purificarea de celelalte celule parentale. Hibrizii prezentau o morfologie și un cariotip intermediar, pe lîngă o malignitate similară liniei N1. Rezultate asemănătoare au fost obținute ulterior de Gershon și Sachs (1963), Scaletta și Ephrussi (1965) sau Selma Silagi (1967).

Problema a luat o amploare deosebită cînd Harris și colab. au ameliorat tehnica de obținere a hibrizilor celulari prin introducerea în cultură a unei suspensii inactivate de virus Sendai. Anterior se demonstrase că acest virus paragripal, însămînțat pe culturi de țesuturi, induce fuzionarea celulară în mase sincițiale, fără a produce leziuni evidente. În culturi mixte, chiar în formă inactivată, virusul Sendai induce mitoze concomitente ale celor două linii celulare, permițînd cu ușurință obținerea de heterocarioni cu amestecuri complementare de cromozomi.

Studiind comportarea hibrizilor rezultați din fuziunea a diferite linii celulare murine normale sau cu diferite grade de malignitate, Klein și Harris (1972) au dedus concluzii foare interesante. Astfel, fuzionarea unor celule normale sau cu malignitate joasă cu linii tumorale foarte

Scanned with OKEN Scanner

maligne duce de regulă, la suprimarea malignității. În același timp, se constată suprimarea unor antigene, ca și segregarea independentă a caracterelor de malignitate și histocompatibilitate. În sfîrșit, hibridarea unor celule conținînd virusuri duce, în funcție de împrejurări, la menținerea sau dispariția acestora.

Un fenomen de hibridare somatică apare responsabil și de obținerea unei tumori mixe $H_{10}ZE$, prin trecerea alternativă *in vivo* și *in vitro* a tumorii $H_{10}Z$ de hamster și a carcinomului ascitic Ehrlich, efectuată de Lydia Fadei (1971).

Importanța teoretică a problemei constă în demonstrarea lipsei unor mecanisme intracelulare de recunoaștere a histocompatibilității: materialul nuclear străin este tolerat și fuzionează în cel propriu într-o masă de ADN care funcționează normal, replicîndu-se și inducînd sinteza proteică.

Practic, se sugerează utilizarea hibrizilor cu antigenicitate crescută dar malignitate dispărută în imunoterapia activă a tumorilor maligne.

D. INTERVENȚIA IMUNITĂȚII ÎN CANCER

Importanța imunității în apariția și evoluția tumorilor maligne este sugerată în primul rînd de observațiile *anatomo-clinice* asupra intervenției unor factori aparent de natură imună; în același sens pledează *observațiile epidemiologice* asupra unei incidențe crescute a cancerului la persoane cu imunitatea deficientă. Punerea în evidență a unor diferențe antigenice între tumoarea malignă și restul organismului, a *antigenelor tumorale,* justifică teoretic existența unei reacții imune antitumorale. Modificările *organelor limfoide* din organisme cu cancer, similare celor întîlnite în cursul altor reacții imune, demonstrează indirect existența acestei reacții. Cele mai convingătoare argumente sînt însă cele de *natură experimentală,* care demonstrează eficacitatea reacției tumorale în anumite condiții și evoluția tumorii în funcție de eficacitatea ei.

Toate aceste constatări justifică încercările de combatere a proliferării tumorale prin stimularea rezistenței imune a organismului împotriva cancerului, deci *imunoterapia cancerului.*

Scanned with OKEN Scanner

II

OBSERVAȚII ANATOMO-CLINICE ȘI EPIDEMIOLOGICE ASUPRA IMUNITĂȚII ANTITUMORALE

A. OBSERVAȚII CLINICE

Observațiile clinice au atras de mult timp atenția asupra unei posibile intervenții a imunității în condiționarea, mai rar chiar în determinarea evoluției bolii canceroase.

În acest sens, se citează *supraviețuirea prelungită a unor pacienți după îndepărtarea chirurgicală incompletă a tumorii maligne* sau chiar *regresiuni ocazionale ale metastazelor*, în special în cazuri de coriocarcinom sau melanom malign, *după îndepărtarea tumorii primitive* (Kidd, 1961; Everson, 1964).

Cel mai interesant aspect este realizat desigur de cazurile excepționale, dar autentice, de *regresiune sau chiar dispariție a unor tumori maligne, spontan sau sub acțiunea unui tratament paleativ*. Revizuind cele peste 1 000 de astfel de cazuri publicate în literatură după 1 900, Everson (1964) a putut reține 130 la care controlul histologic arată de fapt că este vorba de tumori maligne care au prezentat o astfel de regresiune spontană. Aceste cazuri sînt reprezentate de neuroblastoame (28), hipernefroame (21), coriocarcinoame (13), melanoame maligne (12), sarcoame ale țesuturilor moi (9), carcinoame vezicale (8), sarcoame osteogene (6), carcinoame mamare (5), carcinoame rectocolice (4), carcinoame gastrice (3), carcinoame ale cavității bucale (3), teratoame maligne (3), carcinoame metastatice cu punct de plecare necunoscut (2); s-a întîlnit, de asemenea, cîte un caz de carcinom laringian, hepatic, pulmonar, pancreatic și tiroidian.

Scanned with OKEN Scanner

Este interesant faptul că peste 50% din aceste cazuri sînt reprezentate de patru varietăţi tumorale, şi anume: neuroblastoame, hipernefroame, coriocarcinoame, melanoame maligne. Analiza atentă a caracterelor biologice ale acestor tumori surprinde cel puţin cîteva aspecte, care pot fi luate în considerare pentru explicarea naturii imune a factorilor care au produs regresiunea.

Dacă în cazurile de neuroblastom şi hipernefrom nu poate fi pusă în evidenţă intervenţia clară a unor factori de natură imună, această situaţie poate fi luată în considerare în cazul melanomului malign şi în special al coriocarcinomului. Regresiunea unor cazuri de melanom malign este cu atît mai interesantă, cu cît tumoarea este deosebit de agresivă, reprezentînd singurul exemplu de tumoare umană transplantată la alt individ (de la fiică la mamă, Scranton, 1965), deşi net antigenică. În unele cazuri, regresiunea s-a produs în urma unor condiţii de stimulare a imunităţii (vaccinare antirabică, abces).

Coriocarcinomul reprezentînd transplantul de ţesut fetal malign în organismul matern, existenţa reacţiei imune antitumorale este justificată teoretic printr-un mecanism similar eliminării homografelor. Novak (1954) subliniază faptul că încă din primele luni de sarcină, ţesutul trofoblastic prezintă analogii de comportare cu ţesutul malign, prin felul cum infiltrează şi lizează ţesutul matern decidual şi disemnează sub formă de emboli tisulari pînă în plămîn, la 80% din femeile gravide. Ţesutul trofoblastic ar fi distrus de organism după expulsie prin factori similari anticorpilor, care ar fi insuficienţi la femeile care dezvoltă ulterior un coriocarcinom. Involuţia spontană a tumorii s-ar datora producerii din nou a acestor factori. Succesul chimioterapiei în cazuri de coriocarcinom s-ar explica, de asemenea, prin existenţa concomitentă a unei apreciabile reacţii imune antitumorale.

Problema regresiunii spontane a cancerului l-a preocupat în mod deosebit pe William Boyd (1966). După el, concepţia că în cancer avem de-a face cu o proliferare continuă şi progresivă a celulelor tumorale este adevărată numai în cazul tumorilor cultivate *in vitro*, nu şi în cazul tumorilor evoluînd *in vivo*. Chiar dacă potenţialul de creştere al acestor celule rămîne neschimbat, viabilitatea lor poate fi influenţată de condiţiile de mediu, care în unele cazuri pot induce regresiunea tumorii. Cînd o perioadă mai lungă de evoluţie staţionară a tumorii este urmată de una de creştere rapidă, această schimbare ţine probabil mai mult de modificarea organismului (inclusiv a imunităţii sale), decît de tumoare. Rolul stimulant sau frenator al hormonilor trebuie luat în considerare în unele forme de cancer.

Boyd citează cazul unui sugar în vîrstă de o lună şi jumătate, care a prezentat o tumoare a coapsei cu aspect microscopic de miosarcom,

Scanned with OKEN Scanner

tumoare care a dispărut complet în decurs de 5 ani, în lipsa oricărui tratament.

Mai interesante sînt regresiunile spontane apărute după îndepărtarea parţială a tumorii, radioterapie paleativă sau infecţii acute, evenimente care presupun o modificare importantă a raporturilor dintre tumoare şi organism, mai ales prin stimularea imunităţii. Stewart (1952) a observat o pacientă cu miosacrom al uterului, care invada întreg pelvisul şi era aparent rezistent la radioterapie. Spre sfîrşitul tratamentului, în decurs de cîteva ore, s-a instalat febră ridicată, asociată cu erupţie urticariformă, eozinofilie sanguină şi pierdere în greutate de mai multe kilograme în decurs de cîteva zile. Concomitent cu aceste semne de reacţie alergică, tumoarea şi ascita au dispărut definitiv. După Stewart, radioterapia a indus alteraţii ale proteinelor tumorale care au sensibilizat organismul, determinînd o reacţie imună de tipul fenomenului Schwartzman.

În aprecierea cauzelor regresiunii spontane trebuie ţinut seama de acţiunea posibilă a unor factori hormonali (reală în unele cazuri de cancer mamar şi probabilă în melanoame), de sensibilitatea neobişnuită a tumorii faţă de agenţii terapeutici sau de suprimarea acţiunii factorilor carcinogeni (6 din 8 cazuri de carcinom vezical s-au vindecat după devierea fluxului urinar prin ureterosigmoidostomie).

Sensibilizarea pacientului faţă de propria sa tumoare (pusă în evidenţă, după cum se va vedea în cele ce urmează, prin probe de hipersensibilitate întîrziată) ar fi responsabilă de asocierea unor *boli autoimune*. S-a constatat, astfel, apariţia unei dermatomiozite la paciente cu cancer mamar cu reacţii cutanate pozitive la extrasul tumoral propriu (Grace, 1964). Discutînd acest aspect, Curtis (1961) sugerează că metabolitii tumorali ar putea acţiona ca un alergen care iniţiază boala de colagen menţionată. Dermatomiozita ar reprezenta o manifestare relativ rară şi generalizată a unei reacţii de sensibilizare faţă de tumoarea proprie, comună tuturor pacienţilor cu cancer. Probe pozitive de hipersensibilitate întîrziată cutanată au fost puse în evidenţă şi la pacienţi cu cancere digestive metastazante.

În sfîrşit, de multe ori, *în evoluţia cancerului se pot remarca două perioade distincte*, asupra cărora a insistat în special Chester Southam (1963). După o primă perioadă de evoluţie lentă, locală, neinvazivă, nemetastazantă, se instalează o a doua perioadă de creştere exuberantă, cu invazie locală şi metastaze ganglionare şi generalizate, putînd duce la alterarea rapidă a stării generale şi la moarte. În cazul cancerului de col uterin, unde evoluţia tumorii poate fi urmărită prin examinări citologice şi colposcopice repetate, perioada iniţială localizată poate ţine ani de zile, sugerînd o situaţie analoagă şi în alte localizări ale bolii.

Scanned with OKEN Scanner

În unele cazuri, cea de a doua perioadă, de generalizare, urmează la scurt timp după acţiunea asupra organismului a unor factori cunoscuţi prin calităţile lor imunodepresive: surmenaj, stări de încordare psihică, carenţe alimentare, boli infecţioase debilitante, iradiere, corticoterapie, citostatice, ser antilimfocitar. Depistarea intervenţiei unor astfel de factori este sugestivă în special în cazuri de recidive sau metastaze apărute la mulţi ani după îndepărtarea tumorii primitive. În aceste cazuri, este evidentă ruperea echilibrului imunologic care menţinea „adormite" celulele tumorale.

Recent, Crăciun (1975) a atras atenţia asupra importanţei *stress*-ului psihic prelungit în antecedentele pacientelor cu cancer mamar, sugerînd atît dereglări hormonale, cît şi imunologice. Această ipoteză este confirmată de lucrări experimentale efectuate în special de Riley (1975), care demonstrează o semnificativă creştere a incidenţei tumorilor mamare la şoarecele supus unui *stress* psihic cronic sau intermitent prin cufundarea în apă sau simplă manipulare. Creşterea masivă (de aproape 20 de ori) a secreţiei de corticosteron la aceste animale îl determină pe autorul menţionat să considere incidenţa mărită a cancerului ca urmare a acţiunii acestui hormon asupra celulelor limfoide, cu consecutivă depresie imunologică. Evitarea supărărilor, ca şi a eforturilor fizice exagerate, este recomandată cu multă insistenţă pacientelor cu cancer mamar operat de către practicieni cu mare experienţă în domeniul acestei localizări (Gherghina Muşatescu, Maria Bucur), ca o precauţie necesară evitării metastazelor şi recidivelor.

Un mecanism analog poate fi presupus în acţiunea de favorizare a diseminării tumorale pe care traumatismul, inclusiv cel operator, îl are, conform impresiei clinice a numeroşi chirurgi (Molomut, 1958). De exemplu, se cunoaşte acţiunea defavorabilă pe care laparotomia exploratorie o are în cazul tumorilor digestive inoperabile, în ceea ce priveşte diseminarea lor explozivă şi alterarea rapidă a stării generale a pacientului. În acelaşi sens, N. Coman (1975) insistă asupra urmărilor dezastruoase ale toracotomiei în tumorile bronhopulmonare care au depăşit anumite dimensiuni sau se găsesc într-un puseu de creştere evident radiologic.

Aceste observaţii clinice sînt confirmate de lucrări experimentale care incriminează modificarea rezistenţei organismului de către traumatismul operator ca fiind cauza diseminării tumorale. Astfel, creşterea incidenţei metastazelor pulmonare la animale inoculate intravenos cu celule tumorale a putut fi obţinută prin laparotomie şi manipularea intestinelor (Buinauskas şi colab., 1958). Acelaşi efect a fost obţinut prin simpla amputare a unei extremităţi posterioare (Lewis şi colab., 1958) sau simpla laparotomie (Fisher şi Fisher, 1959). Timpul de latenţă al

Scanned with OKEN Scanner

unor tumori transplantate este semnificativ redus prin menținerea deschisă a unor plăgi cutanate chirurgicale (Gottfried și colab., 1961).

Efectul nefast al intervenției chirurgicale este evident în special în cazurile de cancer inflamator al glandei mamare, cînd anumite particularități ale raportului tumoare/organism, condiționate în primul rînd de factori endocrini și imuni, permite o invazie extensivă a limfaticelor sînului. Într-o oarecare măsură, această situație se întîlnește și în cazurile etichetate de Denoix (1968) drept cancere mamare în puseu evolutiv, în care, în conformitate cu propria noastră experiență (Chiricuță, Maria Bucur, S. Bologa, 1974) numai o prealabilă stabilizare a evoluției tumorii printr-o terapie complexă radiologică și citostatică permite intervenția chirurgicală fără riscuri. În caz contrar, în ciuda operabilității tumorii, actul chirurgical este urmat la scurt timp de o diseminare metastatică explozivă.

Aceeași înrăutățire a evoluției unor tumori a fost observată și după aplicarea radioterapiei sau citostaticelor. Din această cauză, clinicieni cu mare experiență ezită să aplice aceste metode în cazuri de cancere diagnosticate într-o perioadă de aparentă staționare, în special în cazuri de cancere bronhopulmonare la persoane în vîrstă.

Cea mai convingătoare dovadă asupra acțiunii defavorabile a unor terapii imunodepresive este furnizată însă de studiul pacienților supuși timp îndelungat unei astfel de terapii în urma unei *transplantări de organ*. Reversul succeselor obținute în acest domeniu este constituit tocmai de incidența semnificativ crescută a tumorilor maligne printre acești pacienți, mai ales printre cei cu transplante renale (Schwartz, 1964; Fialkow, 1967), fără să se poată preciza totdeauna dacă nu cumva celulele tumorale provin de la donator.

Aceasta deoarece s-a constatat că în cazul recoltării organelor de la pacienți decedați de forme metastatice de cancer, organele respective, aparent fără metastaze, puteau conține celule tumorale: astfel, la 6 pacienți, la care s-a transplantat rinichi provenit de la indivizi decedați de cancer bronhopulmonar sau laringian, a apărut o tumoare identică la 7—18 luni de la transplantare. Este foarte instructiv cazul menționat de Wilson (1968) al unui astfel de pacient, la care suprimarea terapiei a dus la eliminarea concomitentă a rinichiului transplantat și a cancerului.

Cît privește tumorile apărute în organismul receptorilor, multe din ele sînt de natură limfoidă. Un caz special îl reprezintă apariția de limfom malign histiocitar la nivelul locului de inoculare repetată a serului antilimfocitar. Deodhar și colab. (1969) oferă două explicații: 1) posibilitatea inoculării unui virus oncogen odată cu serul; 2) inducerea unei reacții imune patologice de către antigenicitatea serului. Pentru prima ipoteză pledează rezultatele experimentale care demonstrează

Scanned with OKEN Scanner

o incidenţă semnificativ crescută a limfoamelor maligne la şoareci inoculaţi concomitent cu virus oncogen şi ser antilimfocitar. Pentru a doua, pledează observaţiile din ce în ce mai frecvente asupra transformării reacţiei imune prelungite, patologice, în limfom malign.

Recidiva tumorală apare ca o complicaţie aproape inevitabilă în cazurile în care transplantarea s-a făcut spre a înlocui un organ canceros. Asupra acestui aspect a insistat în special Starzl (1969) în legătură cu transplantele de ficat la pacienţi operaţi pentru hepatom. Un astfel de pacient, care a supravieţuit 13 luni transplantării, prezenta deja recidivă la trei luni după operaţie. În general însă, în astfel de cazuri, terapia imunodepresivă produce aproape totdeauna recidiva şi diseminarea tumorii primitive.

Bell (1972) menţionează următoarele cauze ale incidenţei crescute a tumorilor maligne la pacienţi supuşi terapiei imunodepresive:

1) în cazuri foarte rare, tumoarea exista în organismul receptorului încă înainte de transplantare, în formă constituită;

2) de cele mai multe ori, tumori latente, a căror proliferare este controlată de imunitatea organismului, devin aparente în urma deprimării acestei imunităţi;

3) o eventuală acţiune carcinogenă a substanţelor imunodepresive, în special a imuranului, ar putea fi responsabilă de apariţia unei tumori maligne în organismul acestor pacienţi;

4) ipotetice virusuri tumorale şi-ar exercita cu uşurinţă acţiunea într-un organism imunodeprimat;

5) nu se poate exclude nici mult discutata posibilitate a transformării unei reacţii imune prelungite, generate de transplant şi inhibate de terapie, în limfom malign.

B. OBSERVAŢII ANATOMO-PATOLOGICE ŞI EXPERIMENTALE

1. TUMORI OCULTE

Încă de mult timp, anatomo-patologii au fost impresionaţi de frecvenţa neobişnuită, în unele organe, a unor cancere oculte, asimptomatice, găsite incidental cu ocazia necropsierii unor pacienţi decedaţi de alte boli. Aceste cancere cu evoluţie lentă, asimptomatică, au fost întîlnite în special în prostată, tiroidă sau rinichi.

În cazul cancerului de prostată, biopsii transperineale executate de Hudson (1954) la 100 de indivizi trecuţi de 40 de ani, luaţi la întîmplare, au pus în evidenţă în 18 cazuri focare de carcinom latent; examenul clinic suspecta existenţa unei tumori la un singur pacient. În privinţa incidenţei cancerului ocult prostatic la autopsie, cifrele variază în

Scanned with OKEN Scanner

funcție de autori; după unii (Bacon și Angrist, 1941), 50% din bărbații trecuți de 50 de ani ar prezenta astfel de leziuni. Corectînd aceste exagerări, Willis (1967) crede totuși că este posibil ca 5—10% din bărbații trecuți de 60 de ani să prezinte astfel de forme latente de cancer, cu evoluție lentă, care nu ajung să producă simptomatologie clinică.

Evoluția unor cancere tiroidiene, forme adenomatoase, ca și a metastazelor lor, poate fi atît de lentă, întinzîndu-se pe mai bine de 10 ani, încît ele pot constitui o surpriză la autopsie. Mult timp metastazele ganglionare ale acestor tumori au fost considerate tiroide aberante.

Faptul că proliferările adenomatoase tiroidiene sînt de la început forme de cancer cu evoluție lentă, dar cu o pronunțată tendință de metastazare în ganglionii cervicali a fost subliniat în special de către Ackerman (1964). În ultimii ani, împreună cu Chiricuță și Bologa, am supus întotdeauna unei atente explorări microscopice intraoperatorii tiroida pacienților la care biopsii anterioare de ganglioni cervicali evidențiaseră existența unei tumori papilifere de natură tiroidiană. În toate cazurile s-au găsit focare uneori de dimensiuni foarte reduse, de adenocarcinom papilifer, de multe ori în lipsa unor modificări evidente ale scintigrafiei tiroidiene. Intervenția chirurgicală radicală a pus în evidență metastaze și în alți ganglioni cervicali. Trebuie subliniat faptul că vîrsta majorității acestor pacienți era cuprinsă între 25—40 de ani. În orice caz, intervenția chirurgicală radicală apare ca soluția terapeutică obligatorie în această formă de cancer în care rezistența imună a organismului determină o evoluție lentă, pînă la urmă totuși malignă.

Se cunoaște evoluția lentă a unor carcinoame renale hipernefroide, care cresc lent și metastazează numai după ani de zile. Recordul este al unui caz care a metastazat la 37 de ani, după diagnosticarea tumorii primitive, întîlnindu-se frecvent însă metastaze după 6—10 ani. Evoluția lentă a acestor metastaze, de multe ori unice, i-a determinat pe unii chirurgi să recomande îndepărtarea lor chirurgicală, ca tratament radical. În sfîrșit, s-a menționat deja evoluția intraepitelială prelungită a unor cancere de col uterin.

În toate aceste cazuri, reacția imună a organismului pare să fie, pe lîngă anumite particularități hormonale, factorul determinant al acestei evoluții lente.

2. STUDII EXPERIMENTALE ASUPRA REACȚIEI IMUNE ANTITUMORALE

O serie de studii efectuate pe pacienți cu cancer demonstrează clar existența și uneori eficiența reacției imune a organismului împotriva propriei sale tumori.

a. **Raportul dintre prezența celulelor canceroase în sînge și metastaze ulterioare.** Există un număr apreciabil de lucrări asupra prezenței

Scanned with OKEN Scanner

de celule canceroase în sîngele periferic, izolate şi identificate prin diferite procedee. Acest lucru se întîlneşte în special la pacienţi cu forme avansate, metastazante de cancer, dar s-a observat şi la pacienţi cu forme localizate de cancer care, operate, n-au mai prezentat metastaze. Ultimul aspect subliniază importanţa rezistenţei imune a organismului în formele localizate de cancer, capabilă să distrugă mici emboli tumorali. Ackerman (1970) atrage atenţia însă asupra rigurozităţii cu care unele celule atipice din sîngele pacienţilor cu cancer trebuie diagnosticate ca celule canceroase.

b. **Autotransplantabilitatea cancerului uman.** Observaţiile menţionate coincid cu cele asupra discrepanţei care există între incidenţa ridicată a celulelor tumorale pe instrumentele şi materialul chirurgical, în timpul intervenţiilor la pacienţi cu cancer, şi raritatea relativă a implantărilor semnalate ulterior.

În acest sens, Grace (1964) a studiat soarta celulelor tumorale autotransplantate subcutanat, realizînd condiţii asemănătoare. Astfel, la o serie de pacienţi cu forme avansate de cancer s-au inoculat subcutanat, cu ajutorul unui trocar, 3—5 fragmente de tumoare proprie, cu un diametru de 1—2 mm. Implantele au fost observate timp de două luni, după care au fost controlate histologic; ele au supravieţuit numai la 2 din 16 pacienţi. Inoculîndu-se 0,5 ml suspensie de celule tumorale la nivelul unor incizii ale peretelui abdominal, ulterior suturate, s-au obţinut rezultate pozitive la 2 din 11 pacienţi. Acelaşi indice relativ scăzut de pozitivitate după autoinoculări de celule canceroase a fost găsit şi de Southam şi Brunschwig (1961) sau Koike şi colab. (1963). Ulterior, Grace (1964) a obţinut creşterea autotransplantului tumoral la 2 din 6 pacienţi cu glioblastom multiform. La aceşti 2 pacienţi erau însă negative intradermoreacţiile cu extras din tumoarea respectivă.

c. **Reacţii de hipersensibilitate întîrziată la pacienţi cu cancer.** Începînd cu observaţiile lui Grace (1964), care a obţinut reacţii cutanate pozitive de hipersensibilitate întîrziată faţă de extracte din propria tumoare la o serie de pacienţi cu cancer mamar, boală Hodgkin sau limfosarcom, mai mulţi autori au demonstrat prin această metodă existenţa reacţiei imune antitumorale.

Interesante sînt în special rezultatele lui Hollinshead şi colab. (1970), care au obţinut astfel de reacţii pozitive la 70% din pacienţii cu forme nemetastazante de cancere digestive. Ei au lucrat cu extracte de membrane celulare conţinînd probabil antigen carcinoembrionar Phil Gold. Cele mai constante rezultate s-au obţinut însă de către acelaşi autor (1974) cu extrase de membrană de celule tumorale la pacienţi cu melanom, rezultate care au fost reproduse de cercetătorii sovietici (Gorodilova şi Hollinshead, 1975).

Scanned with OKEN Scanner

C. DATE EPIDEMIOLOGICE: INCIDENȚA CRESCUTĂ A TUMORILOR MALIGNE LA PERSOANE CU DEFICIENȚE IMUNOLOGICE

Imunodeficiențele sînt boli caracterizate prin alterări mai mult sau mai puțin importante ale reacțiilor imune, ce duc la apariția de simptome variate. În funcție de modul lor de apariție, ele se clasifică în *primare*, cînd deficiența se datorește dezvoltării insuficiente a organelor limforeticulare și boala are un caracter congenital, și *secundare*, cînd deficiența funcțională a acestor organe apare în cursul vieții, din diferite cauze, boala avînd un caracter dobîndit.

1. IMUNODEFICIENȚELE PRIMARE

Imunodeficiențele primare sînt datorate lipsei de dezvoltare sau dezvoltării insuficiente a măduvei hematogene și timusului, organe responsabile de maturația structurală și funcțională a celorlalte formațiuni limfoide din organism și de competența funcțională a imunocitelor. După modul cum această dezvoltare insuficientă repercutează asupra limfocitelor T, responsabile de fenomene de imunitate celulară, sau asupra limfocitelor B, responsabile de producerea anticorpilor umorali, diversele boli interesează imunitatea celulară sau umorală. Desigur că cele mai grave sînt cele care alterează ambele categorii de reacții imune (imunodeficiențele combinate).

a. **Imunodeficiențe combinate.** La pacienții cu aceste boli, anomaliile morfofuncționale concomitente ale măduvei hematogene și ale timusului produc o simptomatologie mai mult sau mai puțin gravă.

Imunodeficiența combinată gravă este, în conformitate cu numele, cea mai severă boală de imunodeficiență, în care există alterări grave ale reacțiilor de imunitate celulară și umorală. Acest aspect a fost foarte corect observat de cei care au numit-o în trecut agammaglobulinemie limfopenică sau alimfoplazie timică. Simptomatologia gravă împiedică supraviețuirea peste vîrsta de un an, dacă nu se aplică tratamentul adecvat. Moartea survine de obicei prin septicemii sau pneumonie bacteriană, virală sau cu *Pneumocystis carinii*. În unele cazuri moartea a survenit prin reacția grefă-contra-organism, în urma transfuziei de sînge neiradiat. Toate imunoglobulinele sînt mult scăzute, diferitele vaccinări sînt lipsite de răspuns, limfocitele nu reacționează la stimularea cu fitohemaglutinină (PHA) sau contactul cu celule străine. Pacienții nu resping transplantele incompatibile. Biopsia ganglionară este contraindicată, pentru că ganglionii sînt nedezvoltați și nu pot fi găsiți, iar plaga chirurgicală se infectează de cele mai multe ori.

Scanned with OKEN Scanner

La necropsie, ganglionii limfatici sînt lipsiţi de structură, nu prezintă nici foliculi, nici cordoane medulare, nici plasmocite. Timusul este atrofic, lipsit de diferenţiere limfoidă corticală. Structurile limfatice digestive sînt puţin dezvoltate sau lipsesc. Acestor copii le lipsesc celulele hematice nediferenţiate din măduvă, capabile să se diferenţieze în limfocite T şi B, ceea ce induce lipsa de dezvoltare a timusului.

Boala are caracter ereditar şi prezintă un *tip elveţian,* care se transmite recesiv printr-o genă legată de cromozomi obişnuiţi (autosomi) şi un *tip Gittlin,* care se transmite, de asemenea, recesiv prin cromozomul X (ultimul fiind mai benign).

Tratamentul constă în transplante de măduvă hematogenă histocompatibilă. În două cazuri în care transplantul a reuşit, revenirea pacientului a fost însoţită de refacerea structurală a timusului.

Imunodeficienţa combinată gravă cu nanism este o formă asemănătoare foarte rară, de asemenea ereditară, asociată cu nanism caracteristic, datorat extremităţilor scurte (nu trebuie confundată cu acondroplazia). Pielea ridată şi lipsa părului le conferă acestor copii asemănarea cu şoarecii lipsiţi de timus. Ganglionii sînt măriţi şi există eozinofilie. Boala aminteşte sindromul de hipoplazie cartilaginoasă şi piloasă, cu imunodeficienţă de tip celular.

Sindromul Wiskott-Aldrich se caracterizează prin trombocitopenie, eczemă şi predispoziţia la infecţii repetate grave; apare ca o boală ereditară care se transmite recesiv prin cromozomul X. Deficienţe ale anticorpilor umorali coexistă cu deficienţe de imunitate celulară. Cei mai mulţi pacienţi prezintă IgM foarte scăzute, pe lîngă IgG uşor scăzute sau normale şi IgA şi IgE normale sau chiar crescute. IgM scăzute apar legate de incapacitatea pacienţilor de a produce anticorpi faţă de antigene polizaharidice. Izohemaglutininele sînt de asemenea foarte scăzute. Faţă de alte antigene se obţin de obicei reacţii normale.

Concomitent, se întîlnesc deficienţe ale imunităţii de tip celular, în special lipsa reacţiilor de hipersensibilitate întîrziată. Există anemie asociată cu trombocitopenie sub 50 000 elemente/mmc, pe lîngă un număr normal de megacariocite. Viaţa scurtă a trombocitelor acestor pacienţi, în contrast cu supravieţuirea normală a trombocitelor normale care le sînt injectate, sugerează un defect calitativ al primelor elemente, ce determină fagocitarea lor de sistemul macrofagic. În lipsa unei terapii adecvate, prognosticul este sumbru, datorită infecţiilor repetate cu pneumococ, herpes, varicelă sau *Pneumocystis carinii,* hemoragiilor şi incidenţei mari a bolilor maligne.

Ataxia teleangiectatică este, de asemenea, o boală cu caracter familial, care începe în copilărie cu ataxie; mai tîrziu, apar teleangiectazii caracteristice la nivelul urechilor şi în jurul ochilor. IgA sînt scăzute la majoritatea pacienţilor, IgE adesea scăzute, consecutiv apărînd infec-

Scanned with OKEN Scanner

ţii pulmonare repetate (la care contribuie şi aspiraţiile consecutive tulburărilor neurologice).

Timusul este atrofic şi lipsit de diferenţiere corticală limfoidă; ca urmare, limfocitele T prezintă deficienţe de comportare *in vitro* (transformare blastică mult diminuată) sau *in vivo* (reacţii de hipersensibilitate întîrziată deficiente). Concomitenţa leziunilor nervoase cu leziunile timusului ar fi datorată unei comunităţi antigenice ale celor două organe, subliniind o patogeneză autoimună. Pacienţii ajung rar la maturitate, ei decedează prin complicaţii infecţioase sau boli maligne.

b. **Imunodeficienţe celulare.** În aceste boli, agenezia sau disgenezia timusului produce alterări mai mult sau mai puţin grave ale reacţiilor de imunitate celulară.

Sindromul Di George, sau sindromul pungilor faringiene III şi IV, este imunodeficienţa celulară tipică, datorată aplaziei sau hipoplaziei timusului şi paratiroidelor (deci a organelor ce provin din pungile faringiene respective). Pe lîngă tetanie, copiii prezintă implantare joasă a urechilor, filtru scurt, micrognaţie şi anomalii cardiace şi aortice. Numărul limfocitelor este foarte redus în sîngele periferic, ganglioni sau măduvă, aceste celule nu se transformă blastic sub acţiunea PHA sau în contact cu celule histoincompatibile. Pacienţii nu elimină transplantele incompatibile, nici nu produc reacţii de hipersensibilitate întîrziată. În schimb, imunoglobulinele sînt în concentraţie normală şi se obţin anticorpi la toxoid tetanic sau bacili tifici atenuaţi. Cînd aplazia timică este completă, nu se obţin însă anticorpi faţă de virusuri (poliomielită, pojar). De aceea, copiii cu această boală prezintă infecţii virale cu evoluţie severă (pneumonii virale după varicelă, rubeolă sau boala incluziilor citomegalice); vaccinarea antivariolică poate determina o gangrenă fatală, ca şi vaccinarea BCG. Se întîlnesc des micoze.

În ganglionii limfatici şi celelalte structuri limfoide, zonele paracorticale apar atrofiate, în timp ce foliculii şi plasmocitele sînt prezenţi (realizînd o imagine asemănătoare organelor limfoide ale şoarecilor timectomizaţi la naştere).

Implantarea de timus fetal a permis în cîteva cazuri refacerea structurii organelor limfoide, ca şi a componenţei imunologice. În alte cazuri, pe măsura înaintării în vîrstă s-au produs remisiuni mai mult sau mai puţin importante, condiţionate probabil de importanţa disgeneziei timice.

Există şi forme fruste de sindrom di George, care, pe lîngă fizionomia caracteristică şi hipocalcemie, prezintă deficienţe imunologice mai puţin evidente, prognosticul bolii depinzînd mai degrabă de importanţa anomaliilor congenitale decît de susceptibilitatea la infecţii. De asemenea, există forme cu imunodeficienţă dar fără disgenezie paratiroidiană şi hipocalcemie, dar cu hipoplazie tiroidiană, sugerînd de data aceasta un sindrom de pungi faringiene II şi III.

Scanned with OKEN Scanner

În sfîrşit, în contrast cu sindromul Di George, al cărui caracter familial nu este bine evident şi apare mai curînd ca o disgenezie întîmplătoare, *sindromul Nézélof* este o disgenezie timică ereditară transmisă recesiv autosomal, caracterizată prin prezenţa imunodeficienţelor, dar fără malformaţiile întîlnite în sindromul Di George.

Tot în grupul imunodeficienţelor de tip celular poate fi încadrată *candidoza mucocutanată cronică,* observată la copii dar şi la adulţi. Apărută de obicei în copilărie, poate fi însoţită, ca şi în cazul sindroamelor precedente, de anomalii endocrine (hipoparatiroidism, insuficienţă suprarenală, diabet). Deficienţele imunologice de tip celular se traduc prin lipsa reacţiilor de hipersensibilitate, a secreţiei de factori de inhibiţie a macrofagelor şi a transformării blastice a limfocitelor în prezenţa antigenilor de Candida, cu care pacientul prezintă infecţii repetate. Imunoglobulinele au valori normale, uneori IgA apar ridicate.

c. **Imunodeficienţe de tip umoral.** De data aceasta, pe lîngă reacţii normale de imunitate celulară, producerea de anticorpi, de imunoglobuline apare deficientă.

Boala caracteristică este *agammaglobulinemia congenitală Bruton,* mai degrabă o hipogammaglobulinemie depistată în copilărie datorită infecţiilor repetate cu germeni piogeni (abcese cutanate, otite, pneumonie, meningite, enterite, septicemii). Pe lîngă streptococi, pneumococi, meningococi, bacili piocianici, se întîlnesc şi infecţii (pneumonii) cu *Pneumocystis carinii.* Există şi o susceptibilitate crescută la hepatită epidemică şi poliomielită. Boala are caracter familial şi se transmite prin cromozomul X.

În contrast cu un timus normal, ganglionii sînt hipoplazici. Vaccinarea antidifterică sau antitetanică nu este urmată de producerea corespunzătoare de antitoxină şi nici de negativizarea reacţiei Schick. Izohemaglutininele sînt de asemenea scăzute sau absente. Plasmocitele sînt rare sau lipsesc, în ganglionii hipoplazici nu se văd foliculi. Se pot produce, în schimb, reacţii cutanate de hipersensibilitate întîrziată, limfocitele se transformă blastic sub acţiunea PHA, transplantele cutanate sînt eliminate iar timusul are structură normală. Boala apare deci ca o deficienţă a limfocitelor B, fără să se poată preciza dacă este vorba de disgenezia corespondentelor structurale ale bursei Fabricius sau de incapacitatea celulelor nediferenţiate de a se matura în direcţia limfocitelor B. Pînă în prezent, transplantele de măduvă hematogenă histocompatibile n-au fost urmate de cele mai bune rezultate, sugerînd valabiliatea ultimei ipoteze.

Există şi o *deficienţă selectivă a IgA,* considerată ca cea mai frecventă formă de imunodeficienţă (după unii), ar surveni cu o frecvenţă de 1 : 700. Caracterul ereditar al bolii nu este totdeauna evident.

Mulţi din pacienţi nu prezintă simptome sau acestea se limitează la infecţii intestinale sau bronhopulmonare mai frecvente. Faţă de lipsa

Scanned with OKEN Scanner

IgA, IgG şi IgM apar mărite, posibil compensator, explicînd lipsa unei simptomatologii evidente.

Sub numele de *imunodeficienţe variabile comune* au fost reunite un grup heterogen de boli imune cu caracter tranzitoriu, cum ar fi hipoimunoglobulinemia femeilor tinere, deficienţele imunoglobulinice (disglobulinemiile tip I—VIII), agammaglobulinemia cu debut tardiv şi altele. Unele dintre ele au un exprimat caracter familial, transmiţîndu-se dominant sau recesiv. La pacienţii cu aceste boli, ca şi la familiile lor, există o incidenţă crescută a bolilor autoimune, pe lîngă hipertrofia ţesuturilor limfoide, în special a ganglionilor limfatici. La aceşti pacienţi, M. D. Cooper (1975) a reuşit să pună în evidenţă, prin imunofluorescenţă, imunoglobuline în citoplasma unor celule limfoide, şi nu la suprafaţa lor. El sugerează că pacienţii respectivi sînt capabili să reacţioneze faţă de diferite antigene, însă limfocitele sînt incapabile să elibereze anticorpii produşi.

d. **Deficienţe ale sistemului complementar.** Printre imunodeficienţe se numără şi bolile datorate insuficienţei unor componente ale sistemului complementar, despre a cărui structură şi funcţie se va discuta la capitolul V. Există cel puţin cinci astfel de deficienţe cu expresie clinică, a şasea — transmisă autosomal recesiv —, fiind lipsită de simptomatologie clinică.

Edemul angioneurotic ereditar este datorat unei deficienţe a inhibitorului esterazei pe care o reprezintă prima fracţiune activată a complementului (C_1a). Activarea inadecvată a sistemului complementar duce la erupţii repetate de edem angioneurotic cu diverse localizări, care devin grave cînd interesează epiglota sau traheea. Boala se transmite autosomal dominant.

Deficienţele fracţiunilor C1r şi C1s se traduce prin simptome asemănătoare lupusului, fără ca celulele LE şi anticorpii antinucleari să fie prezenţi. Unele deficienţe *C1r* se caracterizează prin infecţii repetate. Există persoane cu *deficienţe C3* fără simptomatologie clinică, altele putînd prezenta infecţii repetate, inclusiv septicemie, pneumonie, meningită, sinuzite. Aceasta se datoreşte degradării rapide a fracţiunii, ceea ce duce la anularea capacităţii opsonizante şi bactericide a serului.

Disfuncţia fracţiunii C5 apare ca o deficienţă familială a capacităţii serului de a stimula acţiunea fagocitară a leucocitelor. Bolnavii prezintă în special abcese cutanate, eczemă şi chiar septicemii. O imunitate deprimată legată de disfuncţii ale fracţiunilor complementare poate apărea în legătură cu diferite boli care afectează în special rinichiul.

e. **Incidenţa cancerului la pacienţi cu imunodeficienţe.** În ultimii zece ani, cercetările lui Good şi Gatti (1971, 1972) asupra unei incidenţe

Scanned with OKEN Scanner

semnificativ crescute a tumorilor maligne la pacienţi cu imunodeficienţe subliniază sugestiv legătura dintre imunitate şi cancer.

În mare, incidenţa neoplaziei printre aceşti pacienţi este de 10 000 de ori mai mare decît la populaţia de vîrsta corespunzătoare. Deficienţa imunităţii de tip celular pare să aibă un rol predominant în apariţia tumorilor.

Astfel, 10% dintre indivizii suferind de sindrom Wyskott-Aldrich, ataxie teleangiectazică sau diferite imunodeficienţe variabile comune, prezintă tumori maligne; acestea se întîlnesc şi la 5% din pacienţii cu imunodeficienţă combinată gravă sau agammaglobulinemie congenitală gravă. În general, se întîlnesc limfoame maligne, dar şi cancerele propriu-zise pot apărea cu o incidenţă apreciabilă.

De exemplu, la pacienţii cu sindrom Wyskott-Aldrich, pe lîngă limfoame maligne şi leucemii, se întîlnesc şi tumori pornite din alte ţesuturi. Aceeaşi predominanţă a limfoamelor s-a semnalat şi la bolnavii cu celelalte tulburări menţionate, tumorile carcinomatoase survenind însă într-un procent mai ridicat, cu excepţia agammaglobulinemiei congenitale, la care s-au constatat numai tumori limfomatoase. În schimb, tumoarea care survine caracteristic în imunodeficienţa IgA este cancerul gastric. În acest caz, din punct de vedere patologic este interesantă observaţia asupra unui pacient suferind de această boală, care a prezentat la 36 de ani anemie pernicioasă şi cancer gastric; trei din fraţii săi, cu imunodeficienţă IgA, sufereau de asemenea de boală celiacă sau anemie pernicioasă.

În concluzie, pacienţii cu imunodeficienţe prezintă o remarcabilă incompetenţă a organismului de a recunoaşte şi elimina celulele maligne, pe lîngă faptul că stimulări prelungite ale unui sistem imun deficient structural şi funcţional pot duce de cele mai multe ori şi în scurt timp la apariţia de limfoame maligne. Este caracteristic cazul imunodeficienţei combinate grave, desigur cel mai sever tip de astfel de boală, în cadrul căreia 3 din 34 de pacienţi au prezentat tumori maligne limfoide în primul an de viaţă.

2. IMUNODEFICIENŢELE SECUNDARE

Cînd se vorbeşte de imunodeficienţe, trebuie luate în considerare şi situaţiile în care ele survin secundar unor anumite condiţii (*imunodeficienţe secundare*). În afară de imunodepresia terapeutică a pacienţilor cu organe transplantate, a cărei legătură cu o incidenţă semnificativ crescută a tumorilor maligne a fost menţionată anterior, stări asemănătoare apar şi la alţi bolnavi.

O imunodepresie mai mult sau mai puţin gravă apare la pacienţii cu boli maligne sau autoimune după tratament cu citostatice sau corticoizi.

Scanned with OKEN Scanner

Se acumulează, de exemplu, din ce în ce mai multe date că terapia cu citostatice la un pacient cu cancer, producînd efecte asupra tumorii respective, predispune la apariţia unui al doilea sau chiar al treilea cancer. Penn (1974) a înregistrat 135 de pacienţi cu cancer la care aplicarea prelungită a citostaticelor poate fi considerată responsabilă de apariţia unei a doua tumori, uneori chiar unei a treia. De cele mai multe ori au apărut forme diferite de limfom malign, dar s-au înregistrat şi carcinoame. Aceste observaţii trebuie corelate cu cele în legătură cu apariţia unui nou cancer, în urma radioterapiei (de exemplu, limfangiosarcomul Stewart-Treeves apărut după radioterapia cancerului mamar).

Fenomenul este confirmat de apariţia mai frecventă de tumori maligne la pacienţi cu boli netumorale, trataţi cu citostatice. Aceasta s-a observat în special în psoriază, unde nu se constată o incidenţă crescută a tumorilor maligne, în special limfomatoase, în lipsa unui tratament cu citostatice. În acelaşi sens ar putea fi interpretate tumorile mai frecvente apărute la bolnavi cu scleroză renală trataţi cu citostatice. În alte boli autoimune, cum ar fi reumatismul cronic, lupusul, dermatomiozita, colita ulceroasă sau macroglobulinemia, rezultatele sînt mai greu de interpretat, datorită incidenţei în general crescute a limfoamelor maligne la aceşti pacienţi, chiar în lipsa terapiei cu citostatice.

Se cunoaşte de mult timp acţiunea anergizantă a unor *infecţii virale*, în special a rujeolei, rubeolei, virozei Newcastle sau a bolii cu incluzii citomegalice; observaţiile clinice asupra susceptibilităţii crescute la alte infecţii, în special la infecţia tuberculoasă, sînt confirmate de rezultatele de laborator asupra dispariţiei reacţiilor de hipersensibilitate întîrziată sau a capacităţii de transformare blastică a limfocitelor.

Deosebit de interesante sînt şi rarele, dar foarte instructivele cazuri de *tumori timice asociate cu agammaglobulinemie*. La astfel de pacienţi, hipogammaglobulinemia se instalează uneori la mulţi ani după descoperirea tumorii; consecutiv, apare un sindrom de imunodeficienţă: infecţii pulmonare, meningiene sau digestive repetate, uneori septicemii. Se constată în special diminuarea şi lipsa plasmocitelor. Boala reprezintă un argument asupra importanţei timusului ca sursă de limfocite T în cursul maturităţii fiziologice a organismului, ca şi a importanţei acestor celule în dezvoltarea succesivă a celulelor B. Îndepărtarea tumorii timice nu corectează de obicei imunodepresia.

Limfangiectazia intestinală, cînd este exprimată, poate produce o stare de imunodeficienţă prin pierderi masive de limfă, conţinînd limfocite şi imunoglobuline. Pierderea concomitentă de calciu asociază simptomatologiei tetania. Apar defecte imunologice mixte, în special de tip celular (tolerarea homografelor, susceptibilitatea mare la reacţie grefă-contra-receptor după transfuzii obişnuite de sînge). Simptome asemănă-

Scanned with OKEN Scanner

toare prezintă pacienţii cu fistulă cronică a canalului toracic. Importante alterări ale imunităţii, în special de tip celular, am constatat, împreună cu Şoimiţa Fărăianu, şi la pacienţii cu *endocardită subacută infecţioasă*, ceea ce permite integrarea acestei boli printre deficienţele imune secundare. Nu există la ora actuală observaţii concludente în sensul că la bolnavii cu aceste ultime imunodeficienţe secundare, tumorile maligne ar fi mai frecvente. Punerea în evidenţă a fenomenului ar sublinia importanţa raportului dintre starea imunologică a organismului şi cancer.

Scanned with OKEN Scanner

III

ANTIGENELE TUMORALE

Realitatea imunităţii antitumorale este postulată de existenţa diferenţelor structurale între celulele tumorale şi restul organismului, de existenţa antigenelor tumorale. Ele au fost demonstrate în special în tumorile experimentale produse de virusuri sau substanţe chimice, dar şi în cazul unor tumori animale spontane. În ultimul timp, la o serie de tumori umane s-a pus în evidenţă în mod incontestabil prezenţa unor antigene tumorale, uneori prin metode standardizate, permiţînd utilizarea lor în clinică în scop diagnostic şi prognostic. Aceasta face să se presupună că majoritatea, dacă nu toate tumorile maligne umane, conţin antigene tumorale sau cel puţin prezintă diferenţe structurale faţă de restul organismului.

A. GENERALITĂŢI ASUPRA ANTIGENELOR

Antigenul este o substanţă capabilă să genereze, prin introducerea sa într-un anumit organism, o reacţie imună. Aceasta implică din partea antigenului o anumită organizare structurală macromoleculară, care este recunoscută ca străină de organismul respectiv. În general, substanţele antigenice prezintă o complexitate structurală care le conferă o greutate moleculară mai mare de 10 000. Din această cauză, substanţe proteice cu greutate moleculară mai mică, cum sînt insulina (5 700), protaminele şi histonele (6 000) sau unele fracţiuni de gelatină (6 000) prezintă o antigenicitate redusă, ca şi diferite substanţe polizaharidice de aceleaşi

Scanned with OKEN Scanner

dimensiuni. În general, substanţele antigenice sînt de natură proteică sau combinaţii ale proteinelor cu alte substanţe şi au greutăţi moleculare mai mari (ovalbumina — 40 000, serumalbumina — 70 000, tireoglobulina — 669 000). Cu cît substanţa este mai complexă, cu atît antigenicitatea, capacitatea de a genera reacţii imune, este mai mare. Aceasta se datoreşte probabil existenţei unui număr mai mare de *determinanţi antigenici,* adică de porţiuni limitate de substanţa respectivă, care sînt direct responsabile de inducerea reacţiilor imune. Se înţelege că, cu cît o substanţă este mai complexă şi mai bogată în astfel de determinanţi, cu atît este mai susceptibilă să impresioneze un număr mai mare de gene RI (responsabile de declanşarea reacţiilor imune) şi să inducă o reacţie puternică. Capacitatea antigenică mai redusă a polizaharidelor, în comparaţie cu proteinele, se datoreşte probabil numărului redus sau lipsei unor astfel de determinanţi antigenici. În acest sens, există şi o susceptibilitate legată de specie, oamenii şi şoarecii reacţionînd mai bine cu antigenele polizaharidice, spre deosebire de cobai.

Greutatea moleculară nu este însă singura condiţie a antigenicităţii, după cum rezultă din faptul că numeroase substanţe organice sintetice cu greutate moleculară mare nu sînt antigenice. Este necesară o anumită complexitate a structurii moleculare rezultată dintr-un număr mai mare de compuşi şi din natura legăturilor dintre ei.

Solubilitatea antigenului pare să fie, de asemenea, o condiţie esenţială. Orice antigen trebuie să devină solubil, dacă nu altfel, prin digestia sa de către macrofage. Renitenţa la această acţiune poate explica lipsa de antigenicitate a unor substanţe sintetice.

Heterogenicitatea, condiţie esenţială a antigenicităţii, a fost de mult recunoscută şi subliniată ulterior în cadrul teoriei selecţiei clonale. Un organism nu reacţionează decît împotriva unor structuri pe care le consideră străine. Reacţia împotriva structurilor proprii ţine de anumite condiţii speciale care intervin în cadrul mecanismelor de homeostazie imunologică.

În concluzie, se poate spune că au funcţie de antigen proteinele care depăşesc o anumită greutate moleculară şi polizaharidele cu o anumită complexitate structurală. Acizii nucleici şi lipidele nu sînt antigenice, ci reprezintă *haptene,* substanţe care pot conferi o anumită specificitate unui suport antigenic. Legate de un suport proteic, haptenele pot să

Scanned with OKEN Scanner

induce o reacţie imună capabilă să recunoască haptena izolată de suportul său antigenic, în special sub forma reacţiilor de precipitare. În acest sens, substanţe foarte diferite, de origine virală, bacteriană, animală sau vegetală, pot prezenta funcţie antigenică.

Un caracter important al antigenului este *specificitatea* sa, capacitatea de a reacţiona numai cu anticorpii pe care i-a generat. Această specificitate depinde de recunoaşterea de către anticorpi a structurii grupărilor chimice care le-a determinat formarea, adică a diferiţilor determinanţi antigenici. Numărul de determinanţi antigenici ai unei molecule de antigen reprezintă valenţa antigenului respectiv, adică numărul de anticorpi cu care antigenul se poate combina. Un antigen conţine cel puţin doi determinanţi şi numărul lor creşte în raport cu greutatea moleculară. Întrucît ei se găsesc pe suprafaţa antigenului, numărul lor poate fi determinat după numărul moleculelor de anticorp care se fixează pe suprafaţa sa. Faţă de această valenţă funcţională, există o valenţă totală, reprezentată de determinanţi situaţi în interiorul moleculei de antigen şi care devin activi numai în urma hidrolizei enzimatice a acesteia. De exemplu, molecula de serumalbumină, posesoare a 6 determinanţi antigenici funcţionali, poate fi scindată în 9 fragmente care reacţionează cu anticorpii specifici. Luîndu-se în considerare determinanţii alteraţi în cursul procesului de hidroliză, se presupune că valenţa totală reprezintă triplul valenţei funcţionale. Un exemplu de determinant mascat îi constituie cel conţinut de molecula de imunoglobulină de iepure, care reacţionează cu un anticorp normal din serul acestui animal numai după digestia cu papaină. În cazul antigenelor tumorale, este foarte importantă demascarea unor astfel de determinanţi antigenici nefuncţionali.

Capacitatea unui organism de a reacţiona la un anumit antigen este determinată genetic, prin intermediul *genelor de reacţie imună* (RI), a căror existenţă a fost demonstrată pe linii pure de cobai şi şoareci, cu ajutorul antigenelor polipeptidice sintetice. S-a văzut astfel că sensibilitatea pentru un anumit antigen este determinată de o singură genă dominantă. Cînd se utilizează antigene compuse, mai multe astfel de gene pot coopera pentru a produce o reacţie imună. S-a menţionat anterior strînsa legătură dintre genele RI şi genele care controlează histocompatibilitatea, legătură avînd probabil rol important în realizarea autotoleranţei. Genele RI controlează diferenţierea receptorilor limfocitelor T, care le permit acestora recunoaşterea diferitelor antigene.

Scanned with OKEN Scanner

B. ANTIGENELE TUMORALE

În functie de originea lor, Boyse și Old (1968) au făcut următoarea clasificare a antigenelor tumorale:

Tabelul I

Antigene tumorale extrinseci	Antigen virionic Antigen nevirionic		Tip-specific Grup-specific Neoantigen Antigen de transplantare
Antigene tumorale intrinseci	Mutație		
	Activarea unei gene neexprimate	normal exprimată numai la embrion	Alpha-fetoproteina, antigen carcino-embrionar
		normal exprimată numai în alte țesuturi	antigen splenic în tumori gastrice
		normal neexprimată	antigenul TL

1. ANTIGENELE TUMORILOR VIRALE

Antigenele tumorilor virale sînt determinate de pătrunderea virusurilor oncogene în celule, ceea ce duce la transformarea malignă a acestor celule și la apariția antigenelor respective. Întrucît aceste antigene sînt capabile să inducă respingerea țesutului tumoral de către organisme singenice, deci să genereze reacții antitransplant, ele sînt denumite și antigene de transplantare specific tumorale, spre a le diferenția de antigenele de histocompatibilitate obișnuite. Tumorile produse de virus se caracterizează prin identitate antigenică, cînd au fost induse de același virus, spre deosebire de alte tumori, în special de cele induse prin substanțe chimice, cînd aceeași substanță este capabilă să inducă la indivizi singenici tumori diferite antigenic.

Natura antigenelor din tumorile virale diferă, după cum este vorba de virusuri ARN sau ADN.

a. **Tumori cu virusuri ARN.** Virusurile ARN sînt în general mai mari și capabile să codifice substanțe proteice diferite. Dintre acestea cel puțin una este un antigen tumoral, prezent pe suprafața celulei infectate și specific virusului respectiv, indiferent de natura celulei infectate. În cazul acestei categorii de virusuri, antigenul este legat de virion (particulă virală), fiind specific unui anumit grup sau unui anumit tip de virusuri. De exemplu, în cazul *leucemiei murine* se pune în evidență un antigen solubil specific grupului de virusuri care determină astfel de boli, provenit din sîmburele ribonucleoproteic al particulei virale. Acest antigen de

Scanned with OKEN Scanner

grup este comun diferitelor tipuri de leucemii murine (Gross, Friend, Moloney, Rauscher), putînd fi obţinut atît din celulele leucemice, cît şi din corpusculii virali. El este însă diferit de antigenul solubil extras în mod analog din cancerul mamar al şoarecelui sau din corpusculii virali respectivi, deci are o specificitate de grup. Se pune în evidenţă în special prin reacţii de fixare a complementului sau de precipitare.

Diferitele tipuri de virusuri ale leucemiei murine (Gross, Friend, Moloney, Rauscher, Graffi, Rich) pot fi diferenţiate de multe ori între ele pe baza unui antigen tip-specific, prin metode de neutralizare, citotoxicitate, imunodifuziune sau imunofluorescenţă. Acest antigen se găseşte la nivelul membranei celulelor leucemice sau circulînd în sînge sub formă de corpusculi care pot fi adsorbiţi pe celule. Între unele tipuri de virusuri de leucemie murină au loc şi reacţii încrucişate, anticorpii produşi faţă de un anumit antigen tip-specific reacţionînd cu alt antigen tip-specific din acest grup. În cazul leucemiilor murine, caracterizate prin aceste antigene grup- şi tip-specifice, virusul oncogen se izolează cu uşurinţă. Cînd un astfel de virus induce o tumoare din care virusul nu se mai poate izola, cum este hemangiosarcomul XM-1 produs de virusul Moloney, nu se pot pune în evidenţă antigene grup-specifice, nici nu se poate obţine rezistenţă la transplantarea tumorii prin vaccinare cu alt tip de virus leucemic murin. Este posibil ca celulele leucemice să conţină şi alte antigene decît cele legate direct de virion, dar acest fenomen n-a putut fi pus în evidenţă datorită abundenţei de antigene virionice. Cu ajutorul metodelor de imunofluorescenţă, aceste antigene pot fi puse în evidenţă atît în nucleu, cît, mai ales, în citoplasma celulelor leucemice, care constituie locul de replicare al virusurilor leucemiei murine.

În *leucemia aviară* s-a putut, de asemenea, pune în evidenţă prin fixare de complement sau imunodifuziune un antigen solubil de natură ribonucleoproteică, grup-specific, precum şi un antigen tip-specific, legat de particulele virale (prin teste de neutralizare).

Studiile asupra antigenelor virusului *leucemiei feline*, descoperit de Jarrett în 1964, relevă date foarte interesante asupra istoriei naturale a tumorilor produse de virusuri. Astfel, virusul şi-a dovedit acţiunea oncogenă şi la căţei sau primate şi produce transformarea malignă a culturilor de ţesuturi atît de pisică, cît şi de cîine sau om. La pisică, boala se transmite la descendenţi şi antigenul caracteristic virusului poate fi pus în evidenţă şi în genomul animalelor sănătoase, nu numai la pisica domestică, ci şi la unele specii de pisici sălbatice sau la unele rozătoare (şobolan, şoarece, hamster). De aici, Todaro (1975) trage concluzia că leucemia felină este rezultatul contaminării pisicilor cu un virus murin. Posibilitatea adaptării virusurilor leucemogene la altă specie ridică problema originii animale a unor leucemii umane (în cazul de faţă existînd şi afinitatea demonstrată pe culturi a virusului pentru ţesuturile umane).

Scanned with OKEN Scanner

Prin analogie, se atribuie şi *leucemiei bovine,* care se prezintă ca o enzootie în special în nordul Europei, dar şi în ţara noastră, o origine virală, întrucît, în anumite condiţii, în culturile de celule leucemice s-au pus în evidenţă particule virale.

Virusul ARN oncogen clasic este însă virusul *sarcomului Rous,* care prezintă şi el antigene grup- şi tip-specifice. O particularitate a virusului este că unele tulpini (tulpina Bryan) nu produc sinteza proteinelor care formează învelişul corpusculului şi din această cauză nu au antigenul tip-specific şi nu eliberează corpusculi virali. Tumorile formate din astfel de celule neproducătoare de virus (NP) nu induc formarea de anticorpi neutralizanţi şi nu fac găinile rezistente la o nouă inoculare cu virusul Rous. Acelaşi fenomen se întîmplă prin inocularea virusului la mamifere (rozătoare) ale căror tumori nu conţin corpusculi virali. Aceştia pot fi însă obţinuţi prin reinocularea tumorii la păsări, demonstrînd faptul că genomul viral se menţinea complet în tumora indusă la mamifere, dar nu reuşea să determine formarea de corpusculi virali completi.

La fel de important pentru oncologia experimentală este virusul *carcinomului mamar* al şoarecelui (Bittner), care astăzi este foarte bine cunoscut ca morfologie şi proprietăţi biologice, pe lîngă demonstrarea antigenelor de grup şi tip. Reacţii imune induse faţă de transplantarea tumorii la şoareci toleranţi faţă de virus permit presupunerea existenţei unor neoantigene induse de infecţia virală dar nelegate de corpusculul viral propriu-zis. Actualitatea studiilor asupra acestui virus constă, după cum se va vedea în continuare, din faptul că el constituie un important model pentru patologia umană.

b. **Tumori cu virusuri ADN.** Cancerizarea produsă de virusurile ADN diferă esenţial de cea produsă de virusurile ARN; de aici derivă şi diferenţele dintre antigenele tumorale determinate de cele două categorii de virusuri.

În contrast cu acţiunea virusurilor ARN, care, prin infecţie, determină de cele mai multe ori malignizarea celulelor, cu producerea de numeroşi corpusculi virali de prezenţa cărora se leagă antigenicitatea tumorilor respective, virusurile ADN oncogene acţionează diferit. De multe ori, infecţia cu aceste virusuri duce la reproducerea de particule virale concomitent cu moartea celulelor respective; alteori, replicarea virusului nu se desăvîrşeşte, nu apar noi corpusculi virali, în schimb celulele respective se transformă malign. În timp ce activarea întregului genom este necesară codificării particulelor virale, numai o parte din genomul viral se activează pentru a induce malignizarea. Din această cauză, virusurile ADN produc tumori care nu conţin corpusculi virali şi sînt caracterizate prin antigene care, deşi determinate de prezenţa virusului în celule, nu sînt legate de însăşi structura corpusculilor virali.

Scanned with OKEN Scanner

Aceste neoantigene apar mai întîi în nucleu, sub forma unor structuri aparent identice celor sintetizate de virusurile ADN în fazele precoce ale replicării. Ele persistă şi pot fi puse în evidenţă în celulele care devin maligne şi dispar în celulele care vor muri în urma replicării masive a virusului. Relaţia lor directă cu virusul inductor rezultă din faptul că aceste antigene sînt specifice virusului care le-a determinat şi nu celulelor respective. În acelaşi timp, nu sînt identice cu componentele structurale ale virionului, nici cu enzimele codificate de ADN viral, după cum se poate demonstra prin tehnici de fixare a complementului sau de imunofluorescenţă. Sînt termolabile, inactivîndu-se la 56° şi solubile.

Faţă de aceste neoantigene intracelulare, tumorile induse de virusuri ADN conţin şi antigene de suprafaţă capabile să inducă reacţii de respingere, numite antigene T (de transplantare), a căror existenţă este presupusă, după cum s-a amintit, şi în unele tumori produse de virusuri ARN.

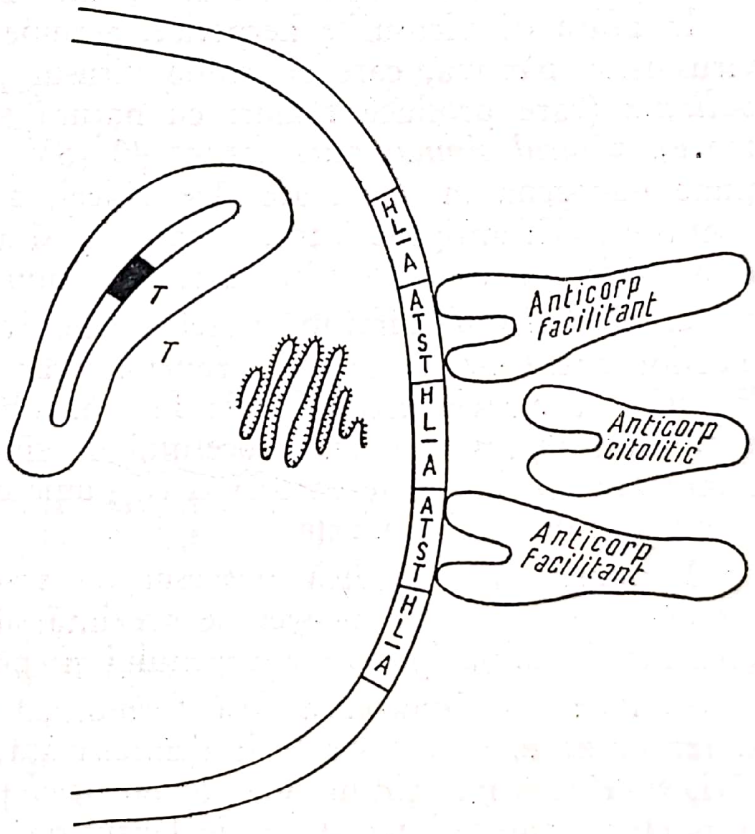


Fig. 8. — Antigenele tumori or induse de virusuri ADN. Virusul ADN integrat în genom (pata neagră) induce formarea de antigen tumoral T intracelular şi antigen tumoral specific de transplantare la nivelul membranei (ATST). Anticorpii facilitanţi faţă de acest antigen previn prin blocarea lui acţiunea anticorpilor citolitici şi a limfocitelor T (după Barrett, 1974).

Aceste antigene determină apariţia unor titruri mari de anticorpi şi se pun în evidenţă în special prin tehnici de imunofluorescenţă (fig. 8).

Unele virusuri oncogene ADN fac parte din familia virusului herpetic. Virusul care induce *carcinomul renal al broaştei-leopard* a fost descris de Lucké (1934), încă acum 40 de ani. *Boala Marek* sau limfomatoza găinilor, cunoscută de asemenea încă de la începutul secolului, s-a dove-

dit de curînd ca fiind produsă de un virus herpetiform. Numeroase încercări de a detecta neoantigeni sau particule virale în tumorile limfoide caracteristice bolii au rămas fără rezultat. S-au găsit însă în celulele tumorale secvenţe de ADN viral integrat în genom sub forma unui provirus (Nazerian şi colab., 1973).

Spre deosebire de această situaţie, *herpesvirusul Saimiri,* alt virus herpetiform, se caracterizează prin capacitatea sa de a genera anticorpi atît în cazuri de infecţii inaparente, cît şi în organisme în care induce formarea de tumori. Virusul se întîlneşte în mod natural la maimuţa-veveriţă, la care determină o infecţie inaparentă demonstrată prin prezenţa de anticorpi specifici. Inocularea exeperimentală la alte specii (maimuţe-bufniţă, marmote) determină apariţia diferitor tipuri de limfoame maligne sau leucemii. Prin metode de imunofluorescenţă, în celulele neoplazice pot fi puse în evidenţă două categorii de antigene, numite, în funcţie de timpul de apariţie, antigene timpurii şi tardive, primele avînd o formă caracteristică trabeculară sau punctiformă (Klein, 1973).

În afară de virusurile herpetice, acţiune oncogenă prezintă şi grupul virusurilor papova, care cuprinde virusul *papilomului infecţios, virusul polioma* (care produce tumori cu natură şi localizare diferită la rozătoare), *virusul simian vacuolizant 40* (SV 40) şi *adenovirusurile* cu acţiune oncogenă la rozătoare. De obicei, aceste virusuri produc tumori conţinînd atît antigene intranucleare, cît şi antigene de suprafaţă, în timp ce apariţia corpusculilor virali este excepţională.

c. **Mecanismul carcinogenezei virale.** Studiile asupra antigenelor tumorilor virale au dus la unele concluzii care au depăşit această problemă, lămurind aspectele esenţiale ale fenomenului de carcinogeneză virală şi subliniind aspecte noi ale procesului de sinteză proteică. Ele au dat un important sprijin celor care cred că numeroase tumori maligne, dacă nu toate, sînt de origine virală.

Ipotezele care explică procesul de transformare malignă a celulei infectate cu un virus oncogen se prezintă sub trei forme principale: ipoteza provirusului, ipoteza oncogenului şi ipoteza protovirusului.

Ipoteza provirusului a fost formulată de Howard Temin în 1960 şi realitatea ei a fost strălucit demonstrată, cel puţin în unele împrejurări, cu 10 ani mai tîrziu. Virusul oncogen pătrunde în celulă, mai precis în nucleu, unde se intercalează în lanţul de ADN care formează genomul, sub formă inactivă de provirus. El poate rămîne mult timp în această formă inactivă, replicîndu-se concomitent cu genomul celulei parazitate. La un moment dat, activîndu-se, începe să inducă pe cont propriu o sinteză proteică pe seama constituenţilor celulari, ceea ce duce la apariţia de particule virale, la malignizarea celulei şi în unele cazuri la moartea ei. Acest mecanism, plauzibil în cazul virusurilor ADN, capabile să iniţieze o sinteză proteică, era greu de înţeles în cazul virusurilor ARN.

Scanned with OKEN Scanner

Temin a presupus că acest lucru este posibil datorită capacităţii acestor virusuri de a-şi sintetiza ADN complementar, care apoi pătrunde în genom sub formă de provirus (fig. 9). Descoperind în 1970 ADN-polimeraza ARN-dependentă sau revers-transcriptaza, Temin şi Mizu-

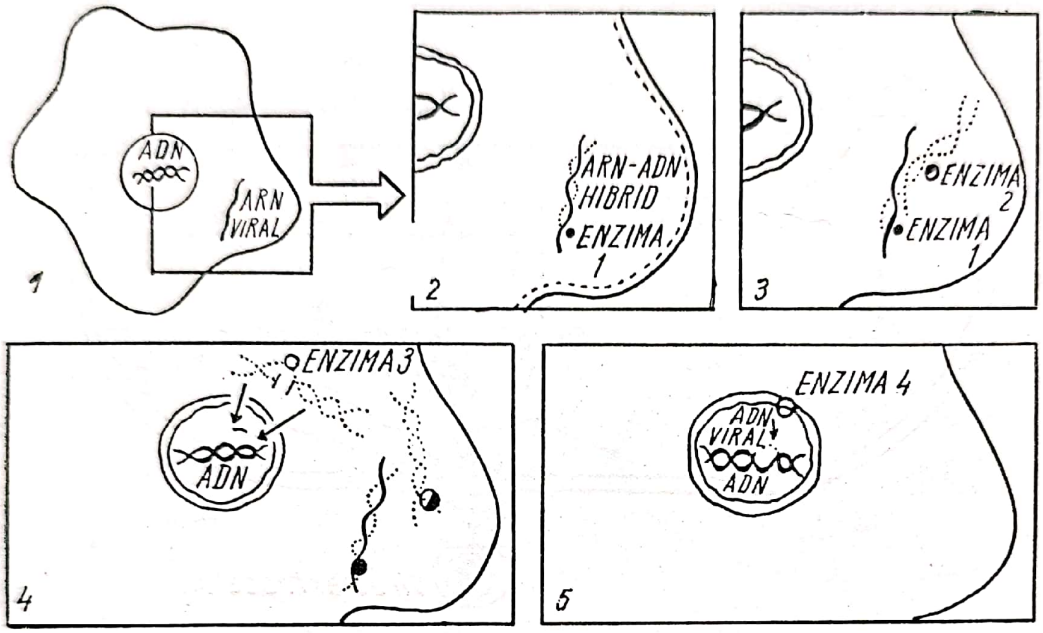


Fig. 9. — Oncogeneza prin virusuri ARN (ipoteza provirusului *Temin*). *1* — ARN viral pătrunde în celulă; *2* — enzima 1 produce ADN complementar, rezultînd un complex ARN-ADN hibrid; *3* — o a doua enzimă produce ADN complementar, formîndu-se o spirală dublă de ADN; *4* — o a treia enzimă secţionează segmente de ADN care pătrund în nucleu; *5* — a patra enzimă determină integrarea ADN viral, sub formă de provirus, în ADN celular.

tani, ca şi Baltimore, au dovedit realitatea ipotezei. Revers-transcriptaza este o enzimă produsă de virusuri ARN prin intermediul căreia pot să-şi sintetizeze ADN complementar. Descoperirea este importantă, deoarece demonstrează că, cel puţin în unele împrejurări, sinteza proteică nu trebuie să înceapă în mod obligatoriu de la ADN, mergînd pe calea demonstrată de Watson şi Crick (1952): ADN→ARN→proteine, ci poate urma calea ARN→ADN→proteine. Ipoteza provirusului este în general acceptată ca fiind valabilă în cazul tumorilor virale cunoscute la animale şi capabilă de a explica transmiterea unui provirus din generaţie în generaţie la om, de unde aparenta lipsă de contagiozitate a tumorilor maligne.

Ipoteza oncogenului, aparţinînd lui Huebner şi Todaro (1969), susţine că informaţia genetică capabilă să genereze cancerul există în fiecare celulă, transmiţîndu-se în mod vertical, de la părinţi la copii. Ea ar fi rezultatul unei contaminări cu virus oncogen întîmplată cu milioane de ani înainte, în cursul evoluţiei. Datorită acestui fapt, genomul fiecărei

Scanned with OKEN Scanner

celule ar conține o regiune oncogenă care în mod normal este reprimată, menținută inactivă. Activarea oncogenului se produce fie sub acțiunea unui virus, fie a unui carcinogen chimic sau fizic și se traduce prin sinteza unei proteine anormale, „transformatoare", și malignizarea celulei.

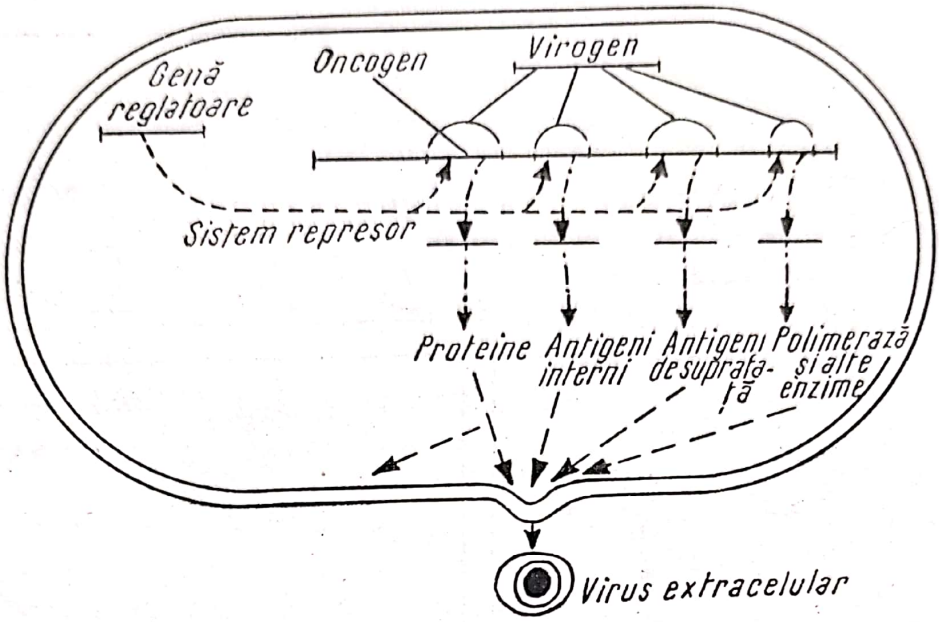


Fig. 10. — Ipoteza oncogenului. Tumoarea este indusă de proteine codificate de un oncogen, porțiune a unei structuri mai complexe, virogenul, care are capacitatea de a produce un virus tumoral complet.

Din această cauză nu este obligatoriu să întîlnim întotdeauna un virus în tumorile maligne. Oncogenul reprezintă numai o parte dintr-o structură mai amplă, virogenul (fig. 10), format din porțiuni de material genetic capabile să se asambleze pentru a reface un virus complet. Virogenul poate deci sintetiza nu numai proteina transformatoare, dar și neoantigenele nucleare sau de suprafață, precum și polimerazele sau alte enzime necesare refacerii corpusculilor virali.

Ipoteza protovirusului reprezintă dezvoltarea de către Temin, în 1970, a ipotezelor precedente, în funcție de descoperirea revers-transcriptazei. Virusurile oncogene ar proveni din protovirusuri, segmente de ADN ansamblate întîmplător în urma unor evenimente diferite cu repercusiune asupra genomului. Deci, producerea infecției cu un virus nu este obligatorie. Un anumit organism nu prezintă de la început, într-o formă reprimată, informația necesară malignizării, ci numai posibilitatea ca la un anumit moment o astfel de informație să apară. Ipoteza este interesantă și în ceea ce privește posibilitatea originii endogene a virusurilor. După Temin, există motive serioase să se creadă că virusurile ARN oncogene ale păsărilor, dacă nu toate virusurile ARN oncogene, provin din

Scanned with OKEN Scanner

componente celulare normale. Individualizarea lor în celulă a fost urmată de noi mutaţii, care le-au permis să scape controlului genetic al celulei care le-a generat şi le-a făcut capabile să pătrundă şi să se înmulţească în alte celule. Depăşirea barierelor de specie, prin infectarea altor animale, a constituit un eveniment deosebit din punctul de vedere al evoluţiei (fig. 11).

Experienţe de hibridizare între ARN cu greutate moleculară mare provenit din virusuri ARN oncogene şi ADN provenit din celule normale confirmă, după Gillespie şi Gallo (1975), ipoteza că genomul virusurilor ARN oncogene provine din gene celulare. Unele virusuri, încadrate de aceşti autori în clasa 1, par să fi apărut de curînd, întrucît structura lor este foarte înrudită cu secvenţa de nucleotide din anumite gene celulare normale. Altele, întrucîtva diferite de structura genomului celulelor normale, făcînd parte din clasa 2, s-au desprins probabil de mai multă vreme.

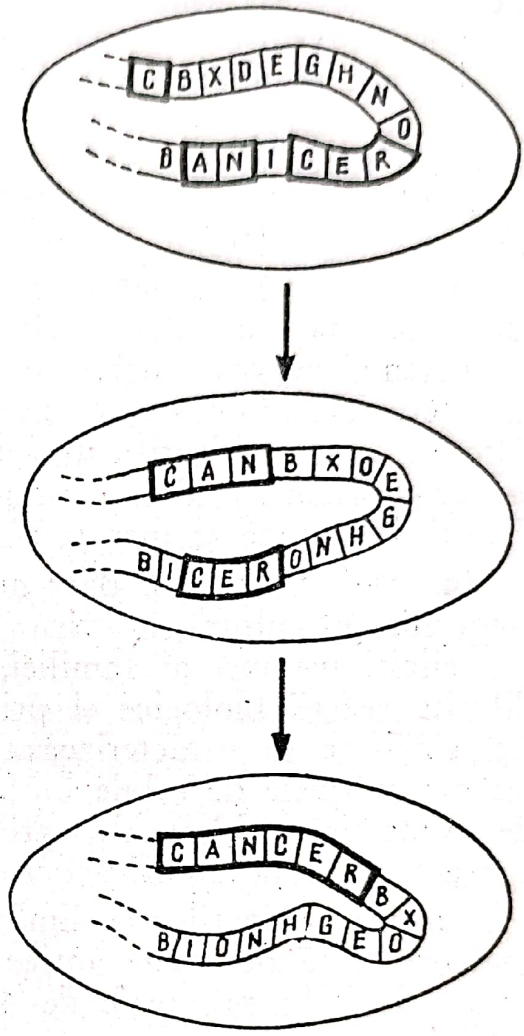


Fig. 11. — Ipoteza protovirusului. **Segmente de ADN asamblate întîmplător determină transformarea malignă a celulei.**

Raritatea cu care se pun în evidenţă virusuri oncogene în celulele umane ar ţine de existenţa unui aparat de control genetic mai eficient la această specie sau de existenţa unor condiţii speciale de mediu, care nu permit virusurilor ce ar putea lua naştere în aceste celule să scape de controlul genomului respectiv. Chiar cînd uneori, la om, astfel de virusuri endogene sînt capabile să se asambleze şi să sintetizeze informaţia oncogenă, ducînd la malignizarea celulelor respective, ele nu sînt capabile să scape din aceste celule şi să infecteze alţi indivizi.

Toate aceste studii, prin semnificaţia lor, au depăşit preocupările de cancerologie, tinzînd să rezolve şi alte probleme importante de biologie. De exemplu, studiul secvenţelor de ADN corespunzînd unor astfel de virusuri ARN şi constituind un eventual virogen în celulele umane normale permite importante concluzii în ceea ce priveşte înrudirea diferitelor specii de primate. Comparîndu-se segmentele corespunzătoare de ADN

Scanned with OKEN Scanner

ale diferitelor specii de maimuțe afro-asiatice, s-a văzut că există o înrudire mai exprimată între om, urangutan, gibon și maimuțele asiatice în general, spre deosebire de gorilă, cimpanzeu și maimuțele africane. Aceste rezultate pun sub semnul întrebării rezultatele antropologice după care specia umană s-a dezvoltat cu precădere în Africa, indicînd o origine asiatică (Benveniste și Todaro, 1976).

d. Tumori umane cu posibilă etiologie virală

Există cîteva situații în care și la om etiologia virală a tumorii maligne este sugerată de o serie de observații.

Limfomul Burkitt. În 1958, Denis Burkitt a descris sub numele de sarcom al maxilarelor copiilor africani o tumoare malignă foarte frecventă în regiunile ecuatoriale, interesînd în mod caracteristic unul sau cele două maxilare, dar și alte oase, precum și organele interne, tiroida sau sistemul nervos. Interesarea ganglionară, deși posibilă, nu este cea mai caracteristică. Majoritatea tumorilor prezintă aspectul unui limfosarcom. Ulterior, au fost identificate astfel de cazuri și în regiunile subecuatoriale sau ecuatoriale ale altor continente; cazuri izolate au fost observate însă și în țări cu climă temperată din America și Europa.

În 1964, Epstein și Barr au izolat din celulele unui limfom Burkitt, menținute în cultură, un virus herpetic de tip special. Identic morfologic cu ceilalți membri ai familiei, se deosebește de aceștia prin inerția în diferite reacții biologice și printr-o antigenicitate caracteristică. Virusul Epstein-Barr se caracterizează de asemenea prin capacitatea sa de a infecta culturile de celule limfoide umane normale, determinînd apariția de forme tinere, blastoide, care își pierd parțial proprietatea inhibiției de contact, prezintă modificări cromozomiale și neoantigene.

Serurile pacienților cu limfom Burkitt prezintă în proporție de 100% anticorpi față de aceste antigene, cu care serurile martorilor nu reacționează decît în proporție de 40—50% și la titruri mult mai joase. În celulele tumorale se pun constant în evidență trei categorii de antigene: un antigen intracelular apărut la scurt timp după infecție, un antigen la suprafața membranei celulare și un antigen reprezentat de învelișul proteic sau capsida virală. De asemenea, virusul a putut fi pus în evidență, la microscopul electronic, în celulele provenite din limfomul Burkitt, după cum toate aceste celule conțin genomul viral integrat în propriul lor genom. Anticorpi față de virusul Epstein-Barr au fost puși în evidență și la pacienții cu mononucleoză infecțioasă, la o proporție apreciabilă de bolnavi cu carcinom rinofaringian și la unii bolnavi cu boală Hodgkin sau leucemie cronică limfatică.

Fără să se poată trage o concluzie definitivă asupra legăturii cauzale dintre acest virus și limfomul Burkitt (virusul a fost izolat și din culturi de limfocite normale și prezența sa în celulele tumorale ar fi numai expresia unei „heterogenizări antigenice", adică a modificării antigenice

Scanned with OKEN Scanner

a celulelor tumorale prin suprainfecţie), virusul Epstein-Barr este la ora actuală candidatul cel mai bine plasat pentru a fi omologat ca agentul etiologic al unei tumori maligne umane. Limfomul Burkitt ar fi urmarea infecţiei cu acest virus a unor persoane cu imunitatea deprimată de infecţii sau infestaţii cronice, în special de malarie (aria geografică a tumorii coincide cu cea a endemiei malarice).

Carcinomul colului uterin. Începînd din anul 1960, mai multe studii au atras atenţia asupra unei posibile legături între cancerul colului uterin şi infecţiile repetate cu virusul herpetic tip II responsabil de herpesul genital. Femeile cu această formă de cancer prezentau un titru de anticorpi semnificativ crescut faţă de acest virus, în comparaţie cu femeile sănătoase. De la început, problema a fost pusă sub rezerva faptului că femeile care schimbă mai frecvent partenerul sînt apte să contracteze mai des infecţia herpetică, după cum prezintă şi un risc crescut la cancer: legătura dintre cele două boli ar fi numai o coincidenţă. Discuţia a fost reactualizată de cercetările lui Hollinshead (1974), care au arătat că 70—90% dintre pacientele cu cancer de col uterin prezintă anticorpi faţă de antigenele nevirionice (determinate de infecţia celulară) ale virusului herpetic, antigene analoage celor determinate de virusurile oncogene în celulele malignizate. Noi studii sînt în curs în scopul elucidării acestei probleme.

Leucemia acută. Frecventa etiologie virală a leucemiei la animale a generat numeroase studii în scopul descoperirii unor virusuri în cazuri de leucemie umană. Unele observaţii care sugerau etiologia virală a leucemiilor umane au fost contrazise de studii ulterioare. Comunicări premature asupra unor pretinse virusuri leucemogene umane, infirmate ulterior, au generat chiar o atmosferă de scepticism în acest domeniu.

O impresie deosebită au produs însă lucrările lui Todaro şi Gallo (1973) asupra izolării şi purificării din celulele unui pacient cu leucemie mieloblastică acută a unei revers-transcriptaze posedînd proprietăţi biochimice şi imunologice asemănătoare revers-transcriptazelor caracteristice virusurilor leucemogene animale şi, în special, celor izolate din tumori virale ale maimuţelor, cum ar fi fibrosarcomul maimuţei păroase americane şi mai ales limfosarcomul şi leucemia mieloidă a gibonului (filogenetic, foarte înrudit cu omul). Autorii au considerat acest rezultat ca o dovadă indirectă a prezenţei în celulele leucemice a unui virus ARN cu posibilă acţiune oncogenă. În continuare, Gallagher şi Gallo (1975) au pus în evidenţă, în materialul recoltat în mod repetat de la un pacient cu leucemie acută mielogenă, particule virale asemănătoare celor întîlnite în leucocitele leucemiilor animale, pe lîngă revers-transcriptaza studiată anterior şi un antigen grup-specific înrudit celor din tumorile virale menţionate la maimuţă. Aceste rezultate au fost confirmate de Todaro, care, în colaborare cu Sherr (1975) a pus în evidenţă acest antigen grup-

Scanned with OKEN Scanner

specific la alţi 5 pacienţi cu leucemie acută. Înalta tehnicitate şi rigurozitate a acestor lucrări ar putea duce în viitor la confirmarea etiologiei virale a cel puţin unei forme de leucemie umană, după ce eventualitatea unei „heterogenizări antigenice" va fi în mod convingător înlăturată.

Carcinomul mamar. Existenţa unei tumori mamare virale la anumite linii de şoareci l-a determinat pe Moore (1971) să cerceteze posibilitatea unei eventuale etiologii virale a cancerului mamar uman. Astfel, el a studiat secreţia glandei mamare la femeile parse din Bombay, care de peste 1000 de ani trăiesc într-o colectivitate închisă, cosanguină, realizînd condiţii genetice întrucîtva asemănătoare cu ale liniilor pure de şoareci şi prezentînd o incidenţă triplă a cancerului mamar, în comparaţie cu restul femeilor din acest oraş. La 39% din femeile parse au putut fi puse în evidenţă particule asemănătoare celor din laptele şoarecilor infectaţi cu virus Bittner, particule în care s-a putut determina prezenţa revers-transcriptazei caracteristice unei infecţii cu virus ARN. Aceleaşi particule au fost puse în evidenţă şi la 50% din femeile americane sănătoase care au avut mame sau surori cu cancer mamar, în comparaţie cu procentul de 5 la femeile care n-au avut astfel de antecedente. Aceste particule ar fi expresia unui virus endogen, transmisibil de la părinţi la descendenţi, ca şi la şoarece dealtfel. El s-ar putea transmite şi sub forma unui virogen, fără să se excludă transmiterea directă a infecţiei de la mamă la făt, în timpul gestaţiei.

Rezultate mai puţin omologate pledează pentru etiologia virală a altor tumori umane. S-a discutat mult în ultimul timp despre capacitatea virusurilor herpetice, inclusiv a tipului I care produce localizarea extragenitală a leziunii, de a genera tumori cu diferite localizări. Sabin şi Tarro (1973), plecînd de la cunoscuta acţiune oncogenă a virusurilor herpetiforme şi de la capacitatea lor de a induce malignizarea culturilor de celule umane, au prezentat rezultate în sensul că aceste virusuri sînt responsabile de producerea unor cancere umane cu diverse localizări. Ei s-au bazat pe prezenţa în serul pacienţilor cu cancer a anticorpilor faţă de antigenii nevirionici, cum numesc ei antigenii formaţi în urma combinării unei proteine celulare cu un fragment de ADN viral. Sabin şi Tarro au găsit anticorpi faţă de aceste antigene, induse de virusurile herpetice I şi II la pacienţii cu cancer de buză, cavitate bucală, faringe, nazofaringe, rinichi, vezică, prostată, col uterin şi vulvă. Pacienţii cu alte 20 de tipuri de cancer, inclusiv cancer de plămîn, stomac, colon şi sîn, nu au prezentat astfel de anticorpi. De asemenea, antigenul nu s-a regăsit în ţesuturile umane fetale. Aceste rezultate nu au mai putut fi reproduse de alţi autori şi nici chiar de Sabin (1974) în cursul unor lucrări de control.

În concluzie, se poate totuşi afirma că numărul considerabil de tumori virale întîlnite la animale face foarte plauzibilă ipoteza ca cel

Scanned with OKEN Scanner

puţin unele tumori maligne umane să aibă o astfel de origine. Descoperiri incontestabile în această direcţie vor însemna nu numai o frumoasă performanţă ştiinţifică, ci vor fi urmate şi de importante aplicaţii practice.

2. ANTIGENELE TUMORILOR INDUSE DE FACTORI CHIMICI ŞI FIZICI

În 1953, Foley a demonstrat pentru prima dată că tumorile induse prin metilcolantren la tulpini pure de şoareci prezintă antigene specifice, care nu există în ţesuturile şoarecilor normali. Aceste rezultate au fost confirmate de Prehn şi Main (1957), care au arătat că aceste tumori, după excizie sau regresiune spontană, conferă organismului rezistenţa faţă de o nouă transplantare cu aceeaşi linie tumorală. Nu s-a putut demonstra existenţa unor fenomene de imunitate încrucişată între trei tumori diferite obţinute prin agenţi chimici.

Rezultate similare au fost obţiute în continuare de Old şi colab. (1962), care au lucrat cu tumori induse cu metilcolantren şi dibenzantracen. Nici ei n-au găsit reacţii de imunitate încrucişată între 6 tumori induse chimic la şoareci BALB/c, deşi specificitatea antigenică a acestor tumori apărea menţinută după numeroase treceri. Spre deosebire de substanţele carcinogene menţionate, dibenzpirenul produce tumori puţin antigenice sau aparent lipsite de antigenicitate, din care cauză pot fi transplantate cu mai multă uşurinţă.

S-a demonstrat, de asemenea, că după îndepărtarea chirurgicală a unei tumori induse chimic, organismul poate deveni rezistent la inocularea cu aceeaşi linie tumorală. În general, tumorile induse prin metilcolantren îşi menţin specificitatea în urma unor treceri repetate; se observă însă şi tendinţa ca în urma unor treceri repetate, această specificitate să scadă progresiv.

Din toate aceste lucrări se desprind concluziile: a) fiecare tumoare indusă chimic conţine antigene diferite şi reacţiile încrucişate sînt rare; b) antigenele prezintă grade diferite de tărie sau se exprimă cu intensitate diferită în fiecare tumoare; c) deşi proprietatea imunizantă persistă de obicei de-a lungul a numeroase generaţii de transplantare, în unele cazuri ea poate dispărea progresiv.

Această diversitate antigenică a tumorilor induse chimic (aceeaşi substanţă induce tumori diferite antigenic la animale aparţinînd aceleiaşi tulpini sau chiar în două regiuni diferite ale aceluiaşi animal) contrastează puternic cu uniformitatea antigenică grup- şi tip-specifică a tumorilor induse de virusuri la animale diferite, sugerînd, după Prehn (1964), un mecanism diferit de carcinogeneză şi producere a antigenului tumoral. Ea contrazice ipoteza activării unui virus latent, subliniind natura endogenă

Scanned with OKEN Scanner

a antigenului caracteristic malignizării, şi presupunînd inducerea unor mutaţii.

Există mai puţine lucrări referitoare la atigenele tumorilor obţinute prin factori fizici sau mecanici. Klein şi colab. (1963) au pus în evidenţă antigenicitatea sarcoamelor induse la şoarece prin implantare de foiţe de celofan. Inocularea unor aimale singenice cu celule devitalizate provenite din această tumoare conferă rezistenţă la inoculare ulterioară a tumorii respective. Nu se poate însă obţine rezistenţă faţă de propria tumoare, dacă aceasta a fost în prealabil îndepărtată chirurgical. Ca şi în cazul tumorilor induse chimic, nu se constată fenomene de imunitate încrucişată. Rezultate asemănătoare au fost obţinute de Prehn (1963), cu filtre milipor, sau de Horn şi colab. (1965) cu tumori induse prin substanţe plastice (clorură de polivinil sau plăci de silicon).

Pasternak şi Graffi (1964) au studiat proprietăţile antigenice ale sarcoamelor induse la şoareci cu raze ultraviolete, constatînd de asemenea că tratarea animalelor cu celule tumorale inactivate face animalul rezistent la transplantarea ulterioară a tumorii respective. Şi în cazul acestor tumori se pare că există o individualitate antigenică, deci o comportare similară cu a tumorilor induse chimic.

Rezultate foarte interesante au fost obţinute de Prehn (1968) în legătură cu apariţia antigenelor tumorilor induse chimic încă într-un stadiu premalign. În acest sens, se relatează rezultatele hrănirii îndelungate a şoarecilor cu metilcolantren: aceasta duce la apariţia de noduli hiperplazici mamari, care pot fi apoi menţinuţi prin transplantări succesive în laba piciorului. Aceşti noduli par antigenici, ca şi papiloamele cutanate, de exemplu, întrucît imunizarea specifică sau nespecifică a animalelor duce la transformarea nodulilor hiperplazici de ţesut mamar în ţesut normal. Reacţia imună a transformat nodulii hiperplazici în ţesut normal, permiţînd probabil selecţionarea celulelor normale din masa celulelor hiperplazice inhibate. Fenomenul este legat probabil de modificările antigenice pe care le determină transplantarea în serie a unei tumori induse sau spontane, prin selecţionarea variantelor celulare mai puţin antigenice.

3. ANTIGENELE FETALE

După cum reiese din clasificarea lui Boyse şi Old, unele tumori se caracterizează prin apariţia unor antigene care erau prezente numai în ţesuturile respective fetale, de unde denumirea de antigene fetale. Importanţa deosebită a acestor antigene constă în faptul că au fost puse în evidenţă în unele tumori umane, evidenţierea lor putînd fi folosită în practica medicală, la diagnosticul acestor tumori. Apariţia acestor anti-

Scanned with OKEN Scanner

gene este legată de reactivarea, prin procesul de malignizare, a unei gene care era activă numai în timpul vieţii intrauterine, expresia ei fiind în mod normal reprimată după naştere. Pentru ca determinarea lor să poată fi utilizată în scopuri practice, este necesar ca aceste antigene fetale să difuzeze în cantitate suficientă în umorile organismului, să fie specifice unor categorii de tumori, să dispară odată cu îndepărtarea tumorii respective şi să reapară în funcţie de recidiva acestei tumori.

a. **Alfa-1-fetoproteina** a fost pusă în evidenţă în serul şoarecilor şi şobolanilor cu hepatom indus de către Abelev (1963) şi în serul pacienţilor cu hepatom de către Tatarinov (1964). Ulterior, existenţa ei a fost confirmată de numeroşi autori. Este o glicoproteină cu migrare electroforetică în poziţia $_1$, fiind un constituent normal al plasmei fetale (de unde derivă şi denumirea sa), care dispare la trei săptămîni după naştere. S-a pus la început în evidenţă prin metoda imunodifuziei, după Ouchterlony, apoi prin metode radioimunologice mai sensibile.

Prin ultimele metode este pusă în evidenţă la 90% din pacienţii cu carcinoame hepatocelulare. Nu este pozitivă în cancerele plecate din căile biliare. În schimb, este pozitivă şi în unele cazuri de teratoame testiculare, ovariene sau cu alte localizări, ca şi în unele cazuri de metastaze hepatice ale unor carcinoame gastrice şi pancreatice. Faptul că este pozitivă şi la unii pacienţi cu ciroză hepatică sau hepatită acută, în special la indivizi tineri, sugerează că depresia genei care codifică această substanţă este legată de condiţii în care se produc proliferări rapide ale celulelor hepatice, inclusiv în cadrul regenerărilor care însoţesc leziunile inflamatorii. Pe lîngă diagnostic, determinarea alfa-1-fetoproteinei permite aprecieri prognostice, ea dispărînd în urma îndepărtării tumorii şi reapărînd cu ocazia recidivelor.

La noi în ţară, a fost studiată în special de Păun şi colab. (1973), Dora Radu, Părău şi Fodor (1975) sau Voiculeţ şi Pecec (1974). Ultimii autori (1975) au obţinut purificarea alfa-1-fetoproteinei de şobolan şi a anticorpilor specifici prin cromatografie de afinitate.

b. **Antigenul carcinoembrionar** a fost descoperit de Phil Gold şi Freedman (1965) în cancerele de colon. Ulterior a fost pus în evidenţă şi în cancerele cu altă localizare ale tubului digestiv, de la esofag la rect, şi ale pancreasului, lipsind în organele respective ale persoanelor sănătoase. Prezenţa lui în intestinul, ficatul şi pancreasul fătului uman între lunile a doua şi a şasea de gestaţie indică natura embrionară a antigenului, a cărui funcţie ar consta în protejarea celulelor digestive incomplet diferenţiate. Malignizarea ţesuturilor respective duce la reapariţia antigenului, probabil prin depresia genei care îl codifică. Aceasta ar coincide cu dispariţia unui antigen mucopolizaharidic al mucoasei digestive normale.

Scanned with OKEN Scanner

De natură glicoproteică, antigenul carcinoembrionar a fost pus în evidenţă în cantităţi mai mici şi la bolnavi cu alte localizări ale bolii maligne (plămîn, glandă mamară, ovar, testicul, prostată, rinichi, vezică urinară, sistem nervos, ganglioni limfatici) şi, în cantităţi reduse, în plasma indivizilor sănătoşi şi în unele ţesuturi normale (mucoasă intestinală, glandă mamară în lactaţie).

Evidenţierea antigenului prin metode de imunofluorescenţă l-au localizat pe suprafaţa membranei celulare (fig. 12) la nivelul polului secretant al celulei, unde este depozitat după secretarea sa parţială sau integrală de către citoplasmă.

Perfecţionarea continuă a metodelor de dozare a acestui antigen în plasmă deschide perspective pentru o din ce în ce mai bună diferenţiere între pacienţii cu tumori digestive, la care valorile sînt ridicate, cei cu tumori cu alte localizări, care prezintă valori mai joase şi persoanele normale posedînd mici cantităţi de antigen. Metoda poate apre-

Fig. 12. — Antigenul carcinoembrionar pus în evidenţă după tehnica lui Phil Gold şi Freedman într-un cancer de colon (Simu şi Doina Ionescu, 1969).

cia şi radicalitatea exerezei chirurgicale şi poate prezice producerea recidivelor.

Se discută, de asemenea, capacitatea antigenului de a induce formarea de anticorpi specifici, ca şi o anumită relaţie cu sistemul ABO. În cursul acestor studii s-au pus în evidenţă şi substanţe care prezintă numai o identitate imunologică parţială cu antigenul carcinoembrionar, numite

Scanned with OKEN Scanner

antigene carcinoembrionare asociate, care ar putea fi responsabile de reacţiile pozitive de la persoane normale sau din alte localizări tumorale decît cele digestive.

c. **Antigenul fetal sulfoglicoproteic** este o sulfoglicoproteină izolată din sucul gastric al pacienţilor cu cancer de stomac (Häkkinen, 1968), prezentă şi în celulele epiteliale de la suprafaţa mucoasei gastrice a fătului. Substanţa s-ar găsi în sucul gastric al acestor pacienţi în proprţie de 96%, dar a fost pusă în evidenţă şi în mucoasa gastrică a unor pacienţi cu ulcer, ceea ce ar constitui un semn prognostic capabil să atragă atenţia asupra evoluţiei spre malignizare. Reacţia este pozitivă şi la unele persoane cu tumori maligne neepiteliale. În comparaţie cu antigenele fetale precedente, există mai puţină experienţă asupra valabilităţii acestor rezultate.

d. **Alfa-2-H-fetoproteina** este o proteină bogată în fier (cu structură apropiată feritinei), prezentă în cantităţi mari în ficatul şi serul fătului uman, dar menţinîndu-se în anumite concentraţii şi în unele organe ale adultului. În cantităţi mari apare însă în serul copiilor cu diferite boli maligne (hemopatii maligne, neuroblastom, nefroblastom, hepatom, teratom) şi în ciroze. Ca şi în cazul alfa-1-fetoproteinei, producerea ei în cantităţi crescute ar fi legată de un proces de proliferare hepatică accelerată (Martin şi colab., 1971).

e. **Beta-S-fetoproteinele** sînt substanţe glicoproteice prezente în serul şi ficatul fătului, care se menţin şi cîteva luni după naştere. Sînt crescute la unii bolnavi cu cancer hepatic (hepatocelular, ca şi de căi biliare), gastric, limfoame maligne şi leucemii, dar şi în unele leziuni inflamatorii (ciroză hepatică, icter mecanic, litiază biliară, abces subfrenic, pancreatită cronică, tuberculoză) (Masopust şi colab., 1968).

f. **Gamma-fetoproteina** este tot o substanţă proteică cu migraţie electroforetică lentă, de asemenea de natură fetală, dar prezentă şi în ţesuturile adulte normale şi tumorale. La pacienţii cu cancer se regăseşte şi în ser, în 11% din cazuri. Induce producerea de anticorpi (Edynak şi colab., 1972).

g. **Antigene asociate leucemiei** au fost identificate în serul pacienţilor cu leucemie, ca şi al fătului. Antigene asemănătoare au fost puse în evidenţă şi la unii pacienţi cu boală Hodgkin, melanom, neuroblastom sau carcinom ovarian.

În concluzie, în etapa actuală, trebuie subliniată posibilitatea aplicării practice a punerii în evidenţă a alfa-1-fetoproteinei şi a antigenului carcinoembrionar şi perspectivele deschise de studiul celorlalte antigene fetale.

Scanned with OKEN Scanner

4. ALTE ANTIGENE ENDOGENE

În unele cazuri, malignizarea s-ar traduce prin apariţia la nivelul ţesutului tumoral a unor antigene, care în mod normal sînt codificate în alte organe ale adultului. În acest sens, Zilber şi Ludogavskaia (1967) au pus în evidenţă în extrasele de cancer gastric un antigen care se întîlneşte normal numai în splina adultului. Acest fenomen constituie aşa-numita diversiune antigenică (Day, 1965).

După Boyse şi Old (1968), există şi situaţia cînd malignizarea determină codificarea unui antigen care în mod normal nu este exprimat nici la făt, nici după naştere. Aceasta este situaţia cu antigenul TL (timus-leucemie), care apare numai în limfocitele de origine timică ale şoarecelui cu leucemie.

Spre deosebire de problema mult studiată a apariţiei de noi antigene în urma transformării maligne, s-a acordat mai puţină atenţie fenomenului de dispariţie a anumitor antigene în cursul acestui proces. După unii cercetători (Rose şi Bartholomeo, 1976), dispariţia inhibiţiei de contact (oprirea procesului de proliferare a unei clone în urma contactului cu alte celule), care caracterizează transformarea malignă, ar fi urmarea dispariţiei unor structuri superficiale cu funcţie antigenică. Pierderea unor receptori pentru hormoni, cu aceeaşi funcţie, ar putea fi de asemenea responsabilă de ineficacitatea controlului hormonal al proliferării tumorale.

În general, se constată persistenţa antigenelor de histocompatibilitate, deşi s-au semnalat tumori lipsite de aceste antigene. Extensia acestor pierderi ar fi proporţională cu gradul de malignitate. În schimb, de multe ori se poate pune în evidenţă dispariţia unor antigene interne, citoplasmatice, în cursul malignizării, cum sînt unele proteine cu funcţie enzimatică. De exemplu, transformarea malignă a celulelor umane de către virusul SV 40 se traduce prin dispariţia esterazei catodice. Integrarea virusului în genomul celulei, cu inducerea malignizării, ar determina represia unor gene învecinate, cu rol în prescrierea unor antigene. Studiile asupra pierderilor de antigene în cursul transformării maligne a celulelor şi asupra semnificaţiei acestui fenomen sînt încă la început.

Scanned with OKEN Scanner

IV

ORGANELE LIMFOIDE ÎN ORGANISME CU CANCER

O importantă categorie de argumente pentru demonstrarea imunităţii tumorale o constituie prezenţa unor modificări asemănătoare celor întîlnite în cursul altor reacţii imune, în organele limfoide ale pacienţilor sau animalelor cu tumori maligne. Aceste modificări îşi au însemnătatea lor, întrucît, în anumite limite, ne permit aprecieri prognostice, în funcţie de felul în care exprimă capacitatea de reacţie imună a pacientului.

A. BAZELE STRUCTURALE ALE REACŢIEI IMUNE

Studiile asupra modificărilor histologice şi citologice din cursul diferitelor reacţii imune au adus o contribuţie deosebită la înţelegerea fenomenului de imunitate şi la obţinerea uimitoarelor progrese din acest domeniu, în ultimii 20 de ani. Metodele microscopice clasice ale anatomiei patologice, dar mai ales metodele moderne (histoenzimochimia, historadiografia, cito-imunofluorescenţa, culturile de ţesuturi) şi tehnicile experimentale, presupunînd solide cunoştinţe de anatomie patologică, au fost utilizate în permanenţă în cursul cercetărilor de imunologie experimentală.

De fapt, anatomo-patologii descriseseră încă de la sfîrşitul secolului trecut hiperplazia limforeticulară mai mult sau mai puţin generalizată, tradusă prin hipertrofia splinei, ficatului, ganglionilor limfatici şi a altor structuri limfoide, în special a plăcilor Peyer, care era întîlnită con-

Scanned with OKEN Scanner

stant în cursul singurelor reacţii imune cunoscute în acel timp, cele din bolile infecţioase. Analogia dintre aceste modificări şi cele întîlnite la pacienţi sau animale de experienţă cu tumori maligne, trasplante de ţesuturi normale, sau prezentînd simptomatologia bolilor numite astăzi autoimune, i-a determinat pe anatomo-patologi să presupună natura imună a reacţiilor de respingere a transplantelor sau a leziunilor întîlnite în bolile de autoagresiune, ca şi existenţa unei anumite rezistenţe imune a organismului împotriva tumorii maligne.

După 1950, numeroase lucrări experimentale şi anatomo-clinice au clarificat principalele aspecte ale dinamicii modificărilor structurale legate de declanşarea reacţiei imune în diferite condiţii, ca şi semnificaţia funcţională a acestor modificări, prin prisma noilor cunoştinţe asupra genezei şi proprietăţilor celulelor participante.

S-a văzut că reacţia imună se desfăşoară după o schemă generală, care prezintă unele particularităţi în funcţie de natura antigenului care a declanşat-o şi capacitatea morfofuncţională a organismului. În general, pătrunderea sau apariţia unor structuri moleculare străine într-un organism (microbi, paraziţi, celule străine, celule proprii modificate structural) determină afluxul şi hiperplazia mai multor categorii de celule, care de multe ori sînt capabile să distrugă, mai mult sau mai puţin prompt, structurile menţionate.

În acest sens acţionează *leucocitele polinucleare* (microfage), *macrofagele* (celule mononucleare cu acţiune fagocitară) şi *limfocitele*. În timp ce afluxul leucocitelor polinucleare spre locul de pătrundere al antigenului, determinat în mare parte de modificările fizico-chimice produse la acest nivel, este expresia unui fenomen de rezistenţă nespecifică, proliferarea celulelor limfoide reprezintă o reacţie imună, îndreptată în mod specific împotriva unei anumite structuri antigenice. Proliferarea şi activitatea macrofagelor, fără să posede acest caracter de specificitate, se leagă de reacţia imună propriu-zisă prin multipla cooperare dintre aceste celule şi limfocite.

Reacţia imună apare astfel efectuată de diferite categorii de macrofage şi limfocite. Tocmai în studiul genezei, categoriilor şi capacităţilor funcţionale ale acestor două celule s-au făcut deosebite progrese în ultimii 15 ani.

1. MACROFAGELE (SISTEMUL FAGOCITAR MONONUCLEAR)

Sub numele de macrofage sau „mîncători mari", Mecinikov (1892) a desemnat celulele mononucleare cu acţiune fagocitară care, împreună cu leucocitele oplinucleare (microfage), sînt responsabile de înglobarea şi distrugerea particulelor străine, inclusiv a microbilor pătrunşi într-un organism. El condiţiona rezistenţa la infecţie a acestui organism de capa-

Scanned with OKEN Scanner

citatea celor două categorii de fagocite de a reține și digera microbii, atribuind imunității un caracter celular. Recunoscînd legătura morfologică și funcțională dintre macrofagele din splină, ganglionii limfatici și măduva hematogenă cu cele din alte țesuturi, el le-a inclus într-un *„sistem macrofagic"*.

Aschoff (1924) a dezvoltat concepția lui Mecinikov în lucrările sale experimentale, bazate pe studiul capacității acestor celule de a reține coloranții vitali introduși parenteral în organism și le-a încadrat în *sistemul reticuloendotelial*. Din acest sistem fac parte totalitatea celulelor mobile sau fixe, dar mobilizabile, capabile să rețină coloranții și să fagociteze resturi celulare, microbi sau alte particule străine organismului. În funcție de această capacitate, fac parte din sistem în primul rînd celulele reticulare din splină sau ganglionii limfatici și celulele endoteliale din capilarele sinusoide limfatice și sanguine, inclusiv celulele Kupffer din endoteliul sinusoidelor hepatice. Într-un sens mai larg, în ordinea capacității lor fagocitare, sînt incluse și monocitele sanguine, histiocitele (celule cu capacitate de mobilizare și fagocitoză din diferite țesuturi) și chiar fibrocitele și restul celulelor din endoteliul vascular (care în anumite condiții speciale sînt capabile de fagocitoză). Maximow (1927) a criticat de la început termenul de sistem reticuloendotelial datorită deosebirii esențiale dintre celulele Kupffer sau macrofagele splenice, dotate cu mare capacitate de fagocitoză și restul celulelor reticulare sau endoteliale. Înlăturînd endoteliile vasculare, Volterra (1927) a propus termenul mai corect de *sistem reticulohistiocitar*. Cele două denumiri au fost utilizate în continuare pentru a desemna ansamblul de celule dotate, pe lîngă proprietățile fagocitare menționate, cu proprietăți hematopoietice, metabolice și trofice.

Noile date asupra proprietăților și mai ales asupra originii celulelor care fac parte din acest sistem au dus, în jurul anului 1970, la necesitatea reconsiderării problemei. Aceasta cu atît mai mult cu cît, în cercetările de imunologie experimentală, în care de cele mai multe ori aceste celule sînt studiate *in vitro*, se utilizează preferențial termenul de macrofage, care definește în esență morfologia și funcția principală a acestor celule.

De aceea s-a propus (van Furth și colab., 1970) încadrarea într-un *sistem fagocitar mononuclear* a celulelor mononucleare dotate cu intensă capacitate fagocitară, uneori de natură imună. Ultima calitate se datorește prezenței pe suprafața acestor celule a unor receptori pentru imunoglobuline sau pentru complexul imunoglobulină-complement. Prin acestea, macrofagele se comportă ca niște fagocite „profesionale", spre deosebire de majoritatea celulelor reticulare, sau de fibrocite și celulele endoteliale, fagocite neprofesionale, ocazionale, cu randament redus, lipsite, în absența receptorilor, de colaborarea imunoglobulinelor și complementului. Prezența de ondulații și microvilozități superficiale, aderența la suprafețe de

Scanned with OKEN Scanner

sticlă şi un important aparat lizozomal, bogat în special în fosfataze, completează caracteristicile acestor celule.

În ceea ce priveşte originea macrofagelor, studii experimentale de înaltă performanţă tehnică, utilizînd celule marcate cu radioizotopi, cromozomi sau antigene, au demonstrat concludent că macrofagele (sau cea mai mare parte a lor) provin din precursori veniţi din măduva hematogenă pe cale sanguină. Acest fapt este confirmat şi de constatarea că macrofagele nu se ivesc în diferite organe decît după apariţia vaselor sanguine.

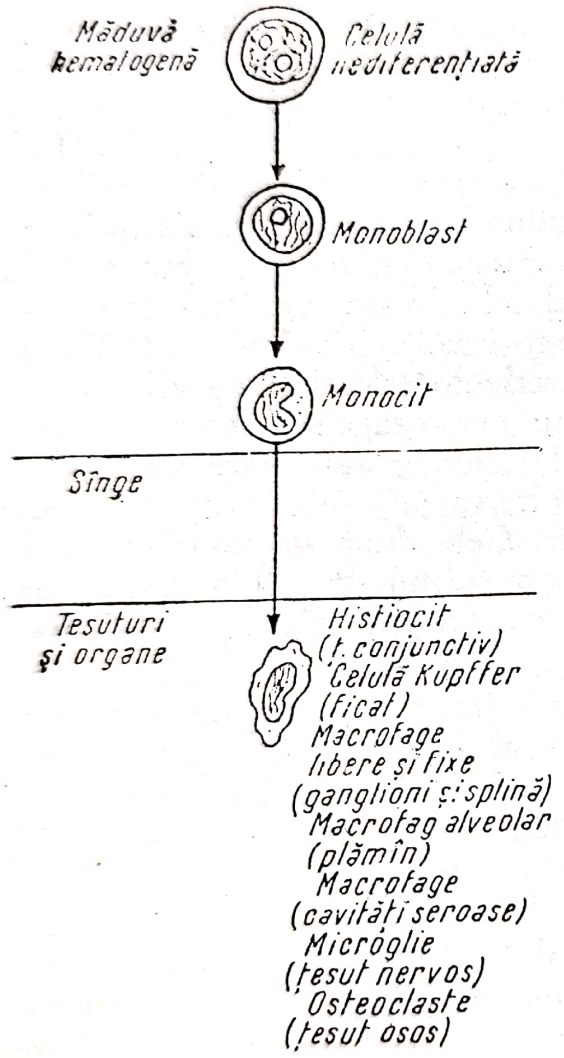


Fig. 13. — Diferenţierea macrofagelor.

Precursorii macrofagelor în măduva hematogenă apar sub forma promonocitelor, provenite din celule hematogene nediferenţiate (*stem cells*). Prin diviziune, ele se transformă în monocite, care pătrund în circulaţia sanguină, unde constituie o populaţie care colonizează organele şi ţesuturile ce conţin macrofage. Transformarea monocitelor în macrofage se face la acest nivel în funcţie de condiţiile locale, prin accentuarea capacităţii fagocitare şi dobîndirea echipamentului enzimatic necesar digestiei materialului fagocitat. Originea monocitară a macrofagelor din ţesutul conjunctiv, cavităţile seroase, plămîn, splină, ganglioni limfatici şi ficat a putut fi demonstrată experimental (fig. 13).

Macrofagele fixe din splină, ganglioni limfatici şi măduva hematogenă au probabil aceeaşi origine, fără să existe însă dovezi definitive în acest sens, ceea ce nu contrazice însă includerea lor în sistem. În splină şi ganglioni, cele două categorii de macrofage sînt dispuse în raporturi strînse cu celulele reticulare. Macrofagele fixe sînt dispuse în ochiurile reţelei formate de celule reticulare, legîndu-se de prelungirile acestor celule, de care sînt greu de diferenţiat. Spre deosebire de celulele reticulare, macrofagele fixe nu formează niciodată fibre reticulare. Originea extraganglionară a tuturor macrofagelor şi completa lor independenţă de

Scanned with OKEN Scanner

celulele reticulare reprezintă o problemă care trebuie clarificată prin noi cercetări.

Aceeași origine, și deci aceeași apartenență, a fost demonstrată și pentru osteoclastele din țesutul osos, sau pentru microglie (celule fagocitare din sistemul nervos), care nu apare decît după formarea vaselor sanguine.

În conformitate cu aceste rezultate sînt excluse din sistemul macrofagic celulele reticulare din organele limfoide, care nu prezintă decît o fagocitoză redusă, sînt lipsite de receptori pentru imunoglobuline și nu au o origine monocitară și, din aceleași motive, celulele endoteliale obișnuite. Este însă discutabilă excluderea dintre macrofage a celulelor dendritice de la periferia foliculilor ganglionari și splenici, celule caracterizate prin capacitatea lor de a reține macromoleculele antigenice la suprafața prelungirilor lor și avînd un rol incontestabil în declanșarea reacțiilor imune. Nu trebuie uitat însă că celulele care formează endoteliul sinusoidelor ganglionare, splenice și medulare, ca și celulele Kupffer de la nivelul sinusoidelor hepatice, sînt și ele de natură macrofagică.

În general, macrofagele apar ca celule cu un diametru de 20 microni, putînd ajunge uneori și pînă la 50 microni, cu nucleu rotund sau reniform. Citoplasma, de cele mai multe ori distinctă, conține numeroase vacuole și incluzii, un bogat echipament de lizozomi și puține mitocondrii. Lizozomii apar ca structuri sferice pe care examinările histoenzimatice le arată ca fiind o colecție de enzime hidrolitice în formă condensată. Particulele fagocitate de macrofage și incluse într-o vacuolă citoplasmatică vin în contact cu acești lizozomi, care se activează și formează împreună un fagolizozom. Particulele fagocitate, inclusiv antigenele, sînt degradate și eliminate. Reticulul endoplasmatic sărac sugerează că ele nu sintetizează proteine (Ig).

Macrofagele pot să adere între ele sau de alte celule datorită capacității de a reține pe suprafața lor anticorpi, numiți anticorpi citofili, care pot reține la nivelul lor antigenul. Importanța macrofagelor în producerea anticorpilor constă în proprietatea lor de a reține partea esențială a antigenului și a-l combina cu ARN (ARN-imunogen, superantigen), formă sub care este transferat în special limfocitelor B. S-a pus în evidență în macrofage și un al doilea tip de ARN cu rol în stimularea producerii de anticorpi, în special IgM, care nu se combină cu antigenul. Ambele tipuri se comportă asemeni ARN mesager, furnizînd limfocitelor informație antigenică (fig. 14, 15).

În concluzie, macrofagele sau fagocitele mononucleare reprezintă un sistem de celule cu exprimată capacitate fagocitară, repartizat în diverse organe dar avînd în mare parte, dacă nu în totalitate, o origine medulară. Ele au rol important în rezistența nespecifică a organismului, dar intervin activ, în cooperare cu limfocitele și în reacțiile imune specifice,

Scanned with OKEN Scanner

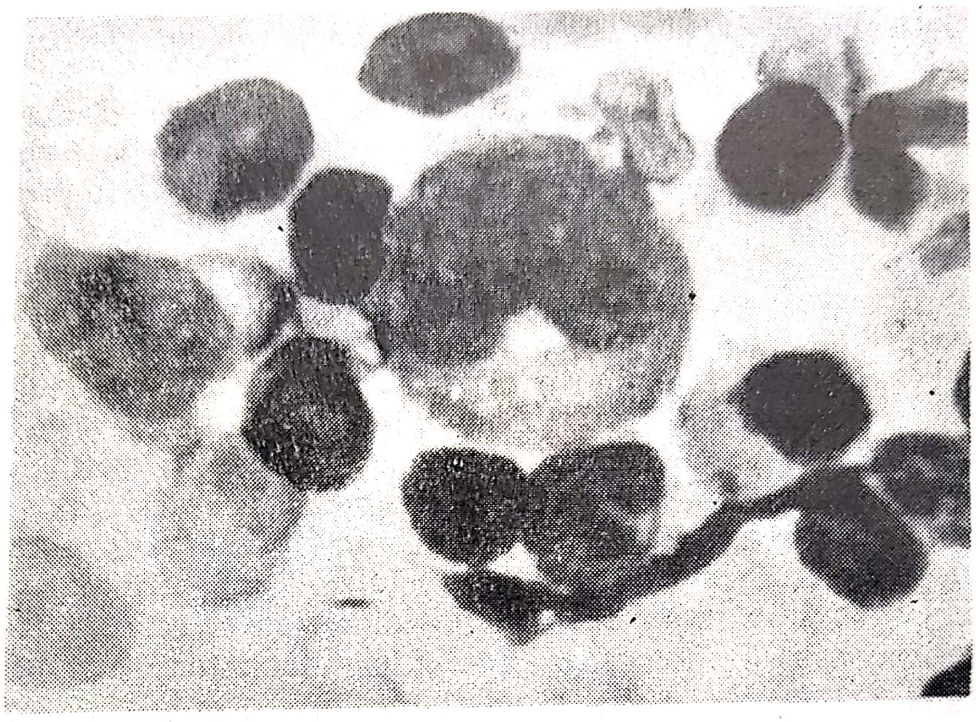


Fig. 14. — Macrofag înconjurat de celule limfoide într-o puncție ganglionară. Col. May-Grünwald-Giemsa, 10×90 (după Macavei, 1975).

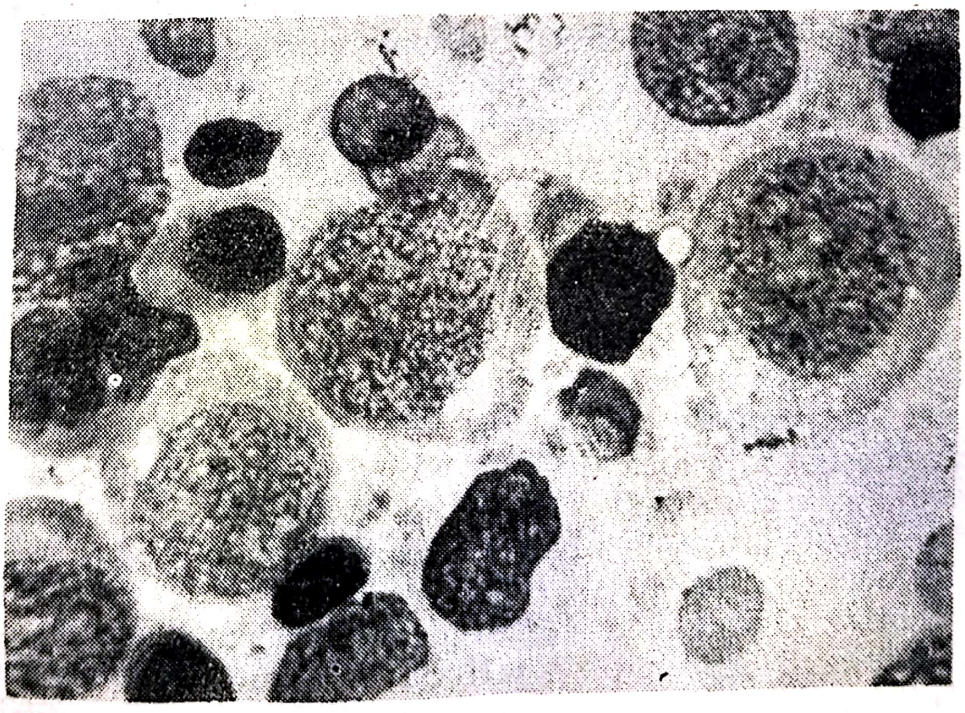


Fig. 15. — Macrofage și celule limfoide. Col. May-Grünwald-Giemsa, 10×90 (după Macavei, 1975).

Scanned with OKEN Scanner

atît la declanşarea, cît şi la finalizarea lor. Sistemul constă, pe lîngă formele tinere, monoblastice sau monocitare din măduvă şi formele intermediare, monocitele sanguine, din macrofagele libere sau fixe din organele limfoide (ganglioni, splină, timus), cavităţi seroase, plămîn, ţesut conjunctiv (histiocite), ficat (celule Kupffer), sistem nervos central (microglie).

2. LIMFOCITELE

Datorită rolului esenţial în imunitate şi datorită funcţiei lor complexe, limfocitele au fost cele mai studiate celule, în ultimii ani. Aceasta, după ce ani de zile funcţia lor a fost considerată obscură, exceptînd afirmaţia lui Maximow (1909), că ele reprezintă celula de origine a tuturor elementelor figurate ale sîngelui. De asemenea, Rubin Popa (1958) spunea că prezenţa limfocitelor este prea constantă la nivelul leziunilor inflamatorii cronice pentru ca ele să nu aibă un rol activ în rezistenţa organismului. Totuşi, în 1961, Wintrobe mai vorbea încă de „considerabila nesiguranţă care există în legătură cu funcţia limfocitului", el fiind însă de părere că „limfocitul mic pare mai degrabă o celulă în repaus, decît o celulă senilă, fiind dificil să i se nege un rol important în apărarea organismului".

De fapt, cam în acel timp, Medawar (1958) a denumit limfocitele mici „celule imunologic competente", vrînd să sublinieze capacitatea lor de a produce o reacţie imună şi identificîndu-le deci cu celulele efectoare ale imunităţii. Această calitate a limfocitelor era demonstrată de capacitatea lor de a restabili imunitatea unor organisme incapabile să respingă transplante incompatibile şi să producă reacţii de hipersensibilitate întîrziată. În astfel de organisme ele puteau produce reacţii de grefă-contra-receptor, după cum puteau produce leziuni veziculare pe membrana corio-alantoidă a embrionului de pasăre.

De fapt, grupuri izolate de cercetători semnalaseră încă de la începutul secolului prezenţa constantă a limfocitelor mici şi a plasmocitelor la nivelul transplantelor de ţesut normal sau tumoral pe cale de eliminare. Inocularea unor animale cu limfocite provenind de la animale care eliminaseră deja un anumit transplant, conferă primelor o rezistenţă crescută faţă de transplantul respectiv. Limfopenia şi atrofia organelor limfoide la copii cu deficienţe imune congenitale, studiată în special de Good (1959), a constituit corespondentul clinic al observaţiilor experimentale menţionate asupra rolului esenţial al limfocitelor în imunitate, după cum fenomenul de transformare blastică, observat de Nowell (1960) în cul-

Scanned with OKEN Scanner

turi, a modificat concepţia clasică a semnificaţiei funcţionale a morfologiei acestor celule. Limfocitele mici au încetat să mai fie considerate celule ajunse la capătul procesului de maturare, analoage granulocitelor sau eritrocitelor; multe din ele sînt capabile, în anumite condiţii, să sufere o întinerire, după care îşi reiau forma obişnuită sau se transformă în plasmocite. S-a văzut că sub un aspect morfologic identic sau aproape identic se ascund celule cu capacităţi funcţionale diferite, care cooperează, însă, la elaborarea reacţiei imune.

În funcţie de dimensiunile lor, limfocitele se împart în mici şi mari, dar există şi forme intermediare. Limfocitele mici au diametrul cuprins între 6—10 microni, cele mari între 10—15 microni. Toate au un nucleu rotund, eventual prezentînd o incizură, nucleu care ocupă aproape întreaga celulă, citoplasma reducîndu-se uneori la o bandă subţire perinucleară; în formele mari, citoplasma este mai abundentă. Nucleul este format din grămezi neregulate de cromatină, separate prin spaţii înguste ce conferă uneori aspectul de spiţe de roată. Citoplasma este uşor bazofilă, datorită conţinutului în ribozomi, fără să fie foarte evidentă dispoziţia ribozomilor în polizomi sau reticul endoplasmatic rugos, cum se întîmplă în celulele cu funcţie activă de sinteză proteică. Se observă şi rari lizozomi şi mitocondrii.

Mobilitatea limfocitelor pare redusă şi numai rar se observă emiterea de pseudopode. Ele sînt capabile însă să stabilească contacte cu macrofagele, celulele tumorale sau alte tipuri de celule prin intermediul uropodelor, prelungiri care le dau aspectul de oglindă cu mîner.

După cum s-a arătat, apariţia limfocitelor pe scară filogenetică coincide cu apariţia vertebratelor şi diferenţierea unui timus limfoid. Un timp s-a şi considerat că cel puţin unele limfocite iau naştere în timus, derivînd din celulele epiteliale. Lucrări experimentale riguroase au demonstrat însă că toate limfocitele provin din celule hematopoietice nediferenţiate sau celule sursă (*stem cells*), originare, în funcţie de vîrsta embrionului, din sacul vitelin, ficat sau, în ultima perioadă a sarcinii şi după naştere, din măduva hematogenă. Unele limfocite, mai ales cele mari, au viaţă scurtă de cîteva zile, distrugîndu-se în special în timus, în condiţii de *stress*. Limfocitele mici, diferenţiate în sensul capacităţii de reacţie imună, trăiesc mai multe luni sau chiar mai mulţi ani. În funcţie de modul lor de diferenţiere şi de proprietăţile lor biologice, ele formează cele două categorii principale de limfocite, T şi B (fig 16, 17, 18, 19).

Limfocitele T (timus-dependente) provin din celule nediferenţiate, care încep să colonizeze timusul — la şoarece din ziua a unsprezecea, la om din luna a treia a vieţii intrauterine. Ele se prezintă ca celule mari,

Scanned with OKEN Scanner

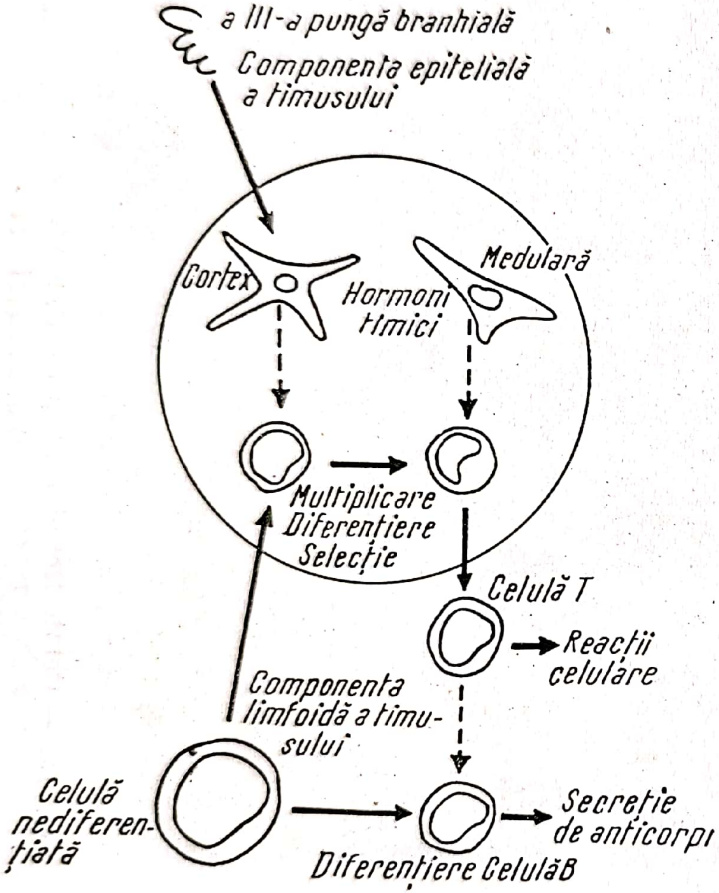


Fig. 16. — **Diferențierea limfocitelor (după Goldstein, 1972).**

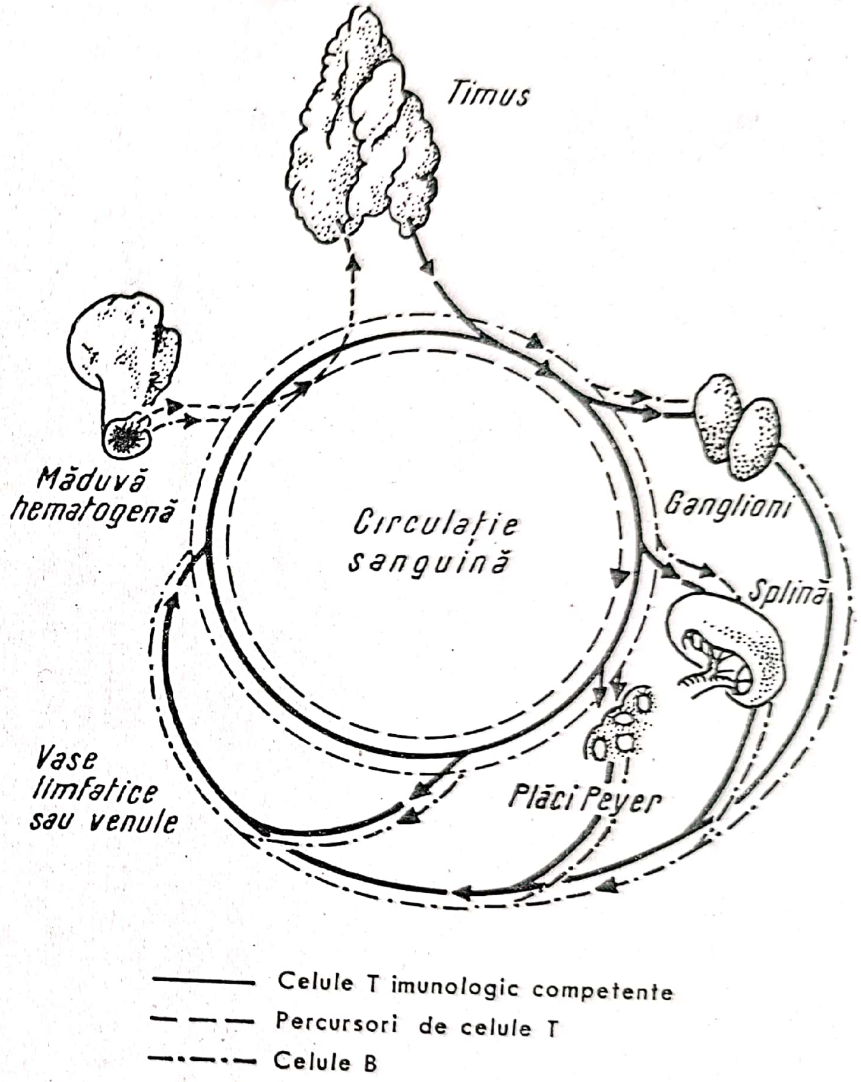


Fig. 17. — **Schema circulației limfocitelor (după Goldstein, 1972).**

Scanned with OKEN Scanner

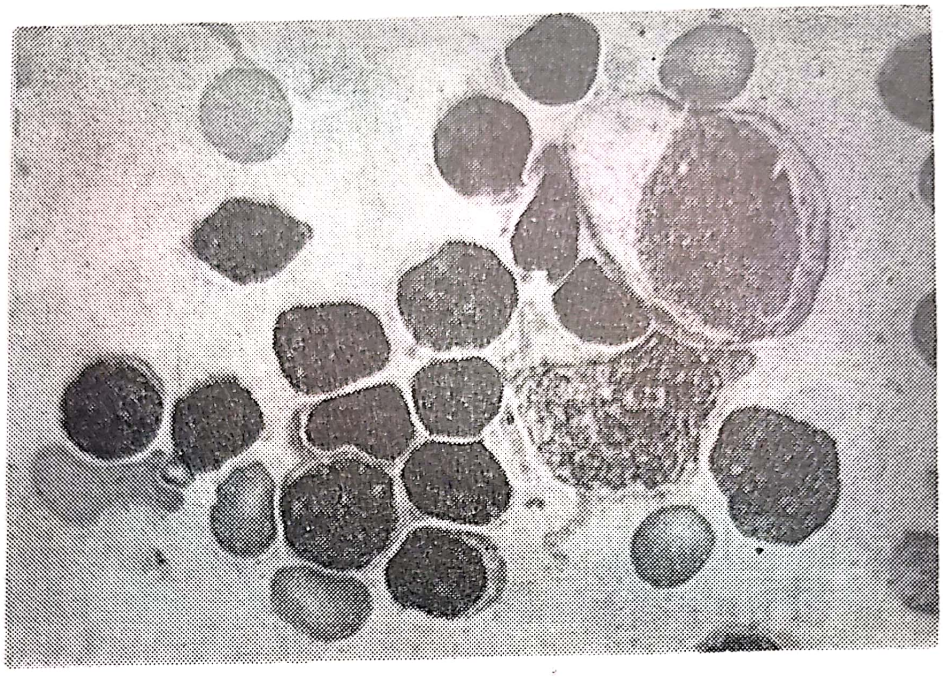


Fig. 18. — Limfocite ganglionare. Col. May-Grünwald-Giemsa, 10×90 (după Macavei, 1975).

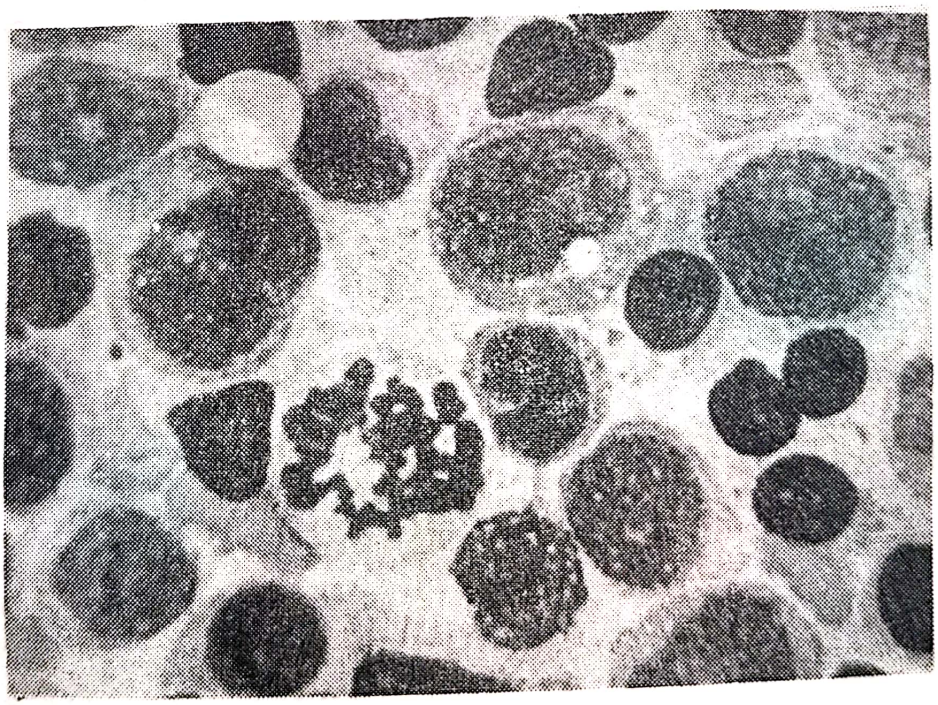


Fig. 19. — Celule limfoide blastice. Col. May-Grünwald-Giemsa, 10×90 (după Macavei, 1975).

Scanned with OKEN Scanner

bazofile, care se diferenţiază progresiv în limfocite mici. Acest proces decurge progresiv din corticală spre medulară, probabil sub acţiunea inductoare a epiteliului timic, care secretă factori ce produc proliferarea şi maturarea limfocitelor. Procesul de diferenţiere se traduce prin modificări morfologice, celulele nediferenţiate transformîndu-se în timocite mari, mijlocii şi mici şi ulterior în limfocite mici, care corespund unor modificări antigenice, timocitelor fiindu-le caracteristice antigenul TL, în timp ce limfocitele T posedă diverse forme de antigene Ly; aceasta, pe lîngă antigenul θ, care permite diferenţierea limfocitelor T, mature şi imature, de limfocitele B. Concomitent, limfocitele T devin imunocompetente, fiind capabile să reacţioneze cu diferite antigene, şi prezintă o rezistenţă crescută la hormonii glicocorticoizi (fig. 20).

S-a constatat că numai 2—5% din limfocitele timice, prezente în special în medulară, se găsesc în acest stadiu de maturitate şi părăsesc organul prin intermediul venulelor din această porţiune, ajungînd în celelalte organe limfatice (splină, ganglioni limfatici, structuri limfatice digestive). Acest proces începe, la cele mai multe specii, imediat înainte de naştere şi se desăvîrşeşte în prima săptămînă de viaţă extrauterină. Din această cauză, timectomia practicată în prima zi după naştere, aşa cum a făcut Jacques Miller (1961), produce o importantă alterare a imunităţii, în timp ce mai tîrziu nu mai obţine acelaşi efect. Este posibil însă ca limfocitele timice să părăsească organul în diferite stadii de diferenţiere sau sub formă de grupuri de limfocite T cu funcţii şi proprietăţi diferite.

Limfocitele T colonizează anumite zone ale organelor limfoide. Astfel, în ganglionul limfatic, străbătînd pereţii venulelor postcapilare, caracterizate printr-un endoteliu înalt, cuboid (fig. 21) se localizează în aşa-numita zonă paracorticală, situată între corticala foliculară şi sinusurile medulare (fig. 22). În splină, străbătînd zona marginală, dispusă la limita dintre pulpa albă şi pulpa roşie, formează tecile periarteriolare de la nivelul periferiei foliculilor limfatici splenici (fig. 23). În plăcile Peyer, ele se găsesc în regiunea interfoliculară. Aceste regiuni constituie aşa-numitele zone timus-dependente, care sînt în special hipertrofiate în diferite tipuri de reacţii imune.

Limfocitele B au aceeaşi origine ca şi limfocitele T (sac vitelin, ficat sau măduvă hematogenă, în funcţie de vîrsta embrionului). La păsări, celule nediferenţiate, identice celor care colonizează timusul, migrează, începînd din ziua a douăsprezecea — a treisprezecea, în bursa Fabricius, organ care apare sub forma unei derivaţii sacciforme a cloacei la embrionul de pasăre, în ziua a cincea. În cîteva zile, celulele nediferenţiate se transformă în limfocite, conferind bursei o structură limfoepitelială ana-

Scanned with OKEN Scanner

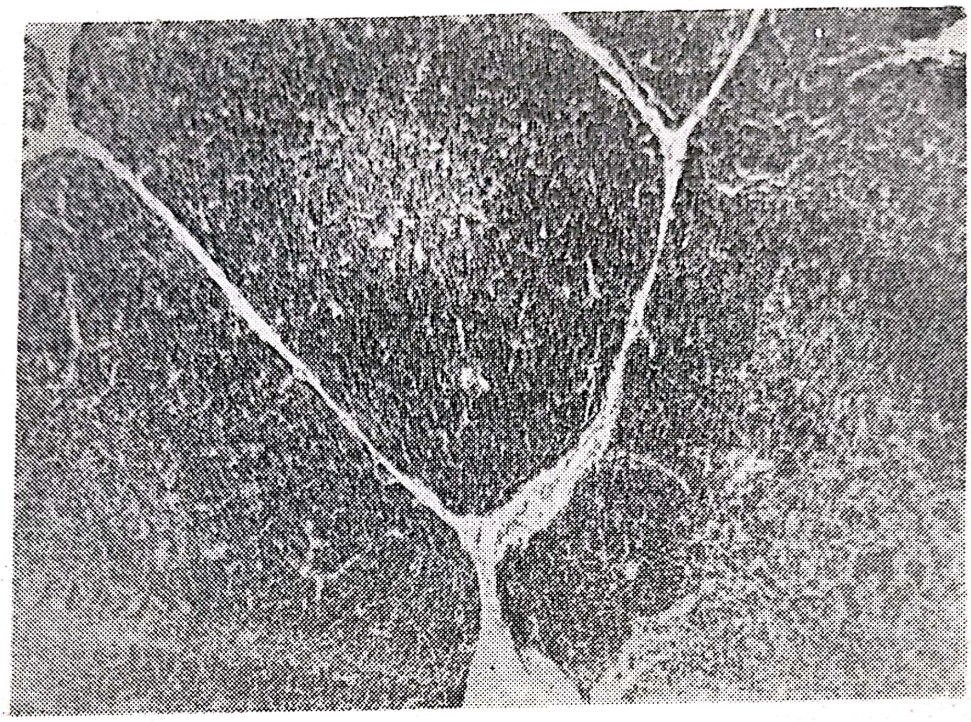


Fig. 20. — Aspectul histologic al timusului, col. H-E, 7×10.

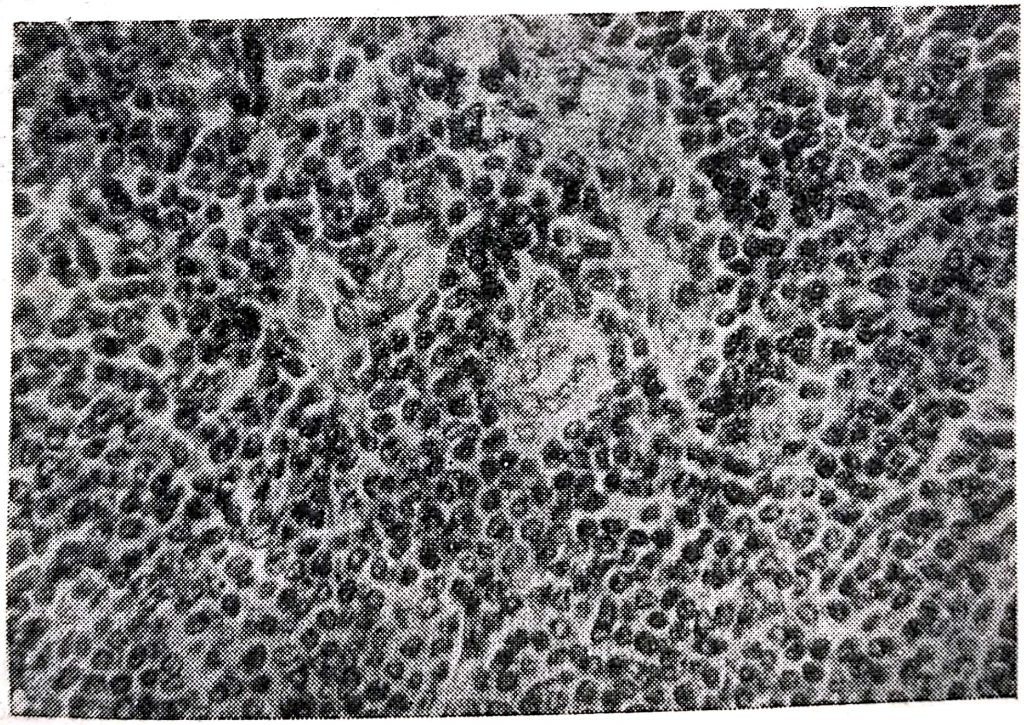


Fig. 21. — Zonă paracorticală cu venule postcapilare. Col. H-E, 10×20.

Scanned with OKEN Scanner

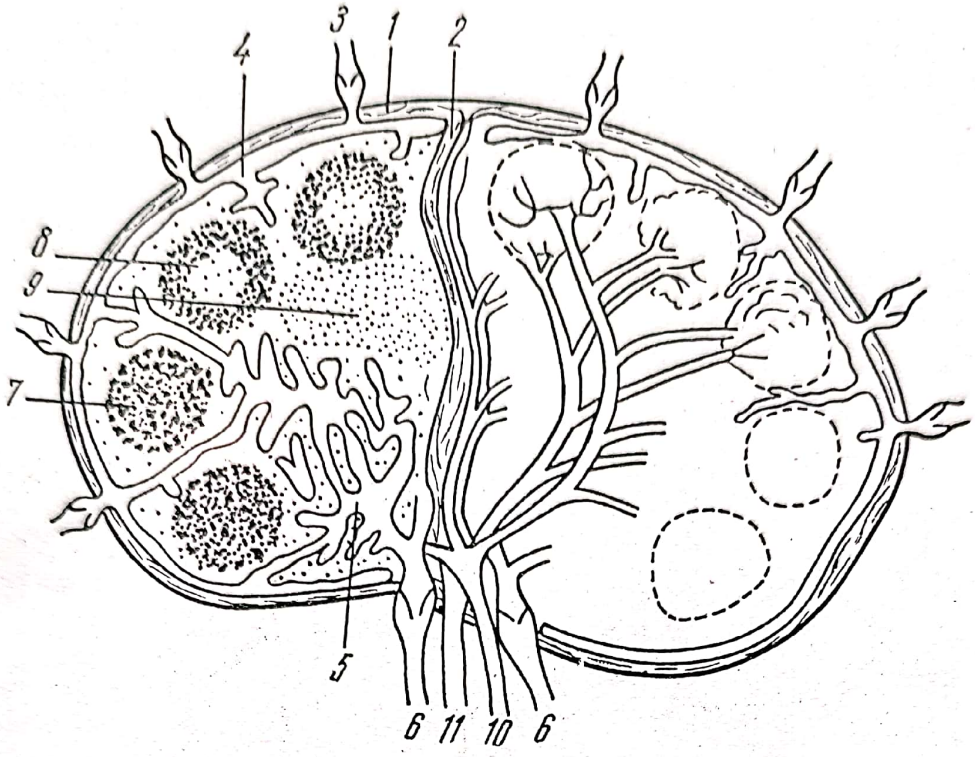


Fig. 22. — Schema structurii microscopice a ganglionului limfatic: *1* — capsulă; *2* — sept conjunctiv; *3* — vas limfatic aferent; *4* — sinus marginal; *5* — sinus medular; *6* — vas limfatic eferent; *7* — folicul primar *8* — folicul secundar; *9* — zonă paracorticală; *10* — arteră; *11* — venă.

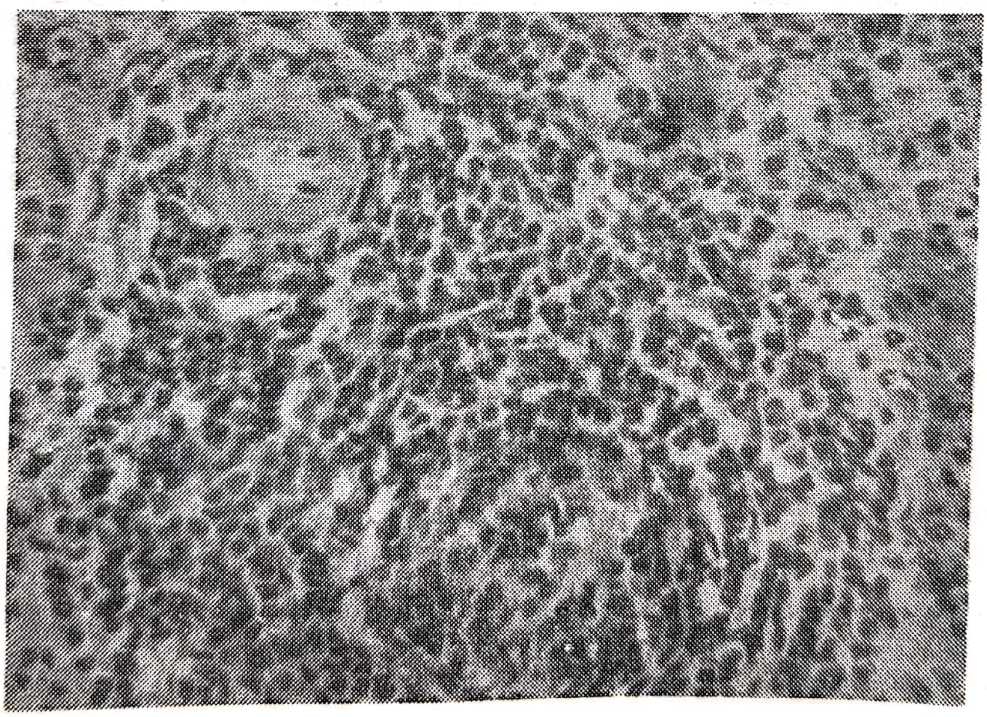


Fig. 23. — Pulpă albă splenică: folicul limfoid și teaca periarteriolală. Col. H-E, 10×10.

loagă timusului (fig. 24). Deşi aparent identice morfologic cu limfocitele T, aceste limfocite B (bursă-dependente) îşi demonstrează capacităţile funcţionale diferite, prin apariţia pe suprafaţa lor a imunoglobulinelor, la început IgM, apoi IgG. Spre sfîrşitul perioadei embrionare, aceste lim-

Fig. 24. — Bursa Fabricius la pui de găină, Col. H-E, 7×20.

focite colonizează organele limfoide periferice. Din această cauză, îndepărtarea bursei Fabricius în perioada embrionară duce la o importantă scădere a capacităţii organismelor aviare de a produce imunoglobuline (Cooper şi colab., 1972). Interesant este că injectarea în această perioadă a unui ser anti-IgM, combinată cu bursectomia, suprimă producţia ulterioară atît de IgM, cît şi de IgG, sugerînd că cel puţin unele limfocite B, care îşi încep activitatea prin producerea de IgM, se convertesc în producătoare de IgG. Se pare că această convertire s-ar produce fie sub acţiunea stimulării antigenice, fie independent de această stimulare. Spre deosebire de marea susceptibilitate a timocitelor la cortizon, administrarea hormonului la pui de găină stimulează mai degrabă migrarea limfocitelor din bursă spre celelalte ţesuturi limfoide şi diferenţierea lor în plasmocite mature. În legătură cu această comportare diferită a limfocitelor, în funcţie de specia animală, Victoria Maria Rusu şi Max Cooper (1975) vorbesc de „specii rezistente la cortizon".

Nu se cunoaşte organul în care, la mamifere, celulele nediferenţiate se transformă în limfocite B. Analogia de situaţie a făcut să se presupună

Scanned with OKEN Scanner

că structurile limfoide anexate tubului digestiv (amigdale, apendice, plăci Peyer) ar avea acest rol, fără să se poată demonstra aceasta în mod convingător. Se pare că diferenţierea s-ar produce deja în măduvă sau, în cursul vieţii intrauterine, în ficat. Cît priveşte momentul în care celulele hematopoietice nediferenţiate se angajează în direcţia limfocitului T sau B, se pare că aceasta se produce odată cu pătrunderea celulelor respective în timus şi bursă, sub acţiunea inductoare a epiteliilor respective.

Ca şi limfocitele T, limfocitele B colonizează anumite zone preferenţiale. Ele formează foliculii ganglionari, splenici sau ai altor organe limfoide şi sînt prezente, de asemenea, în cordoanele medulare ale ganglionilor. În urma unei solicitări antigenice, suferind fenomenul de transformare blastică, ele se diferenţiază în plasmocite secretoare de Ig.

Cele mai multe limfocite T circulă încontinuu între sînge şi limfă, trecînd din sînge prin venulele postcapilare în ganglioni sau în plăcile Peyer şi apoi, după ce străbat reţeaua de capilare limfatice, părăsesc aceste structuri prin vasele limfatice eferente şi pătrund din nou în sînge prin canalul toracic. Se pare că limfocitele B iau parte în măsură mai redusă la aceste deplasări. În general, în fiecare zi s-ar produce în organism 10^6—10^7 limfocite, în diferitele organe limfoide. Dintre acestea, un mic număr reprezintă celule care, plecate din măduvă, s-au maturat în timus înainte de a trece în circulaţie. Timusul continuă şi în organismul adult să furnizeze o cantitate de limfocite T şi, din această cauză, organele limfoide la animale adulte timectomizate se refac mult mai greu, în urma iradierii, decît la animalele cu timus.

Este foarte dificil să se *deosebească* morfologic limfocitele T de limfocitele B. Refringenţa în contrast de fază a celulelor T, după fixarea pieselor în bicromat de potasiu, remarcată de Pompidou şi Schramm (1971), nu a putut fi reprodusă în toate circumstanţele. În general, limfocitele T sînt ceva mai mari, mai dense, mai puţin aderente de anumite materiale cum sînt sticla sau nylonul şi prezintă o încărcătură electrică negativă mai mare. Aceasta permite separarea lor electroforetică, ele deplasîndu-se mai rapid într-un astfel de cîmp. Întrucît tratamentul cu neuraminidază suprimă această deosebire, ea a fost atribuită cantităţii inegale de acid sialic de pe suprafaţa limfocitelor, care este îndepărtat de această substanţă.

Dacă examenul la microscopul optic şi electronic nu poate diferenţia cele două categorii, se pare, în conformitate cu observaţiile lui Polliack şi colab. (1973), că acest lucru este posibil cu ajutorul microscopiei electronice în relief (*scanning electron microscopy*). Limfocitele B prezintă în general o suprafaţă viloasă, păroasă, datorită prezenţei a numeroase prelungiri, spre deosebire de limfocitele T, a căror suprafaţă este mai

Scanned with OKEN Scanner

netedă (fig. 25). Nu toţi autorii sînt de acord asupra valabilităţii acestei metode de diferenţiere, deosebirile menţionate putînd fi, cel puţin parţial, urmarea procedeelor tehnice utilizate (Alexander şi Wetzel, 1975).

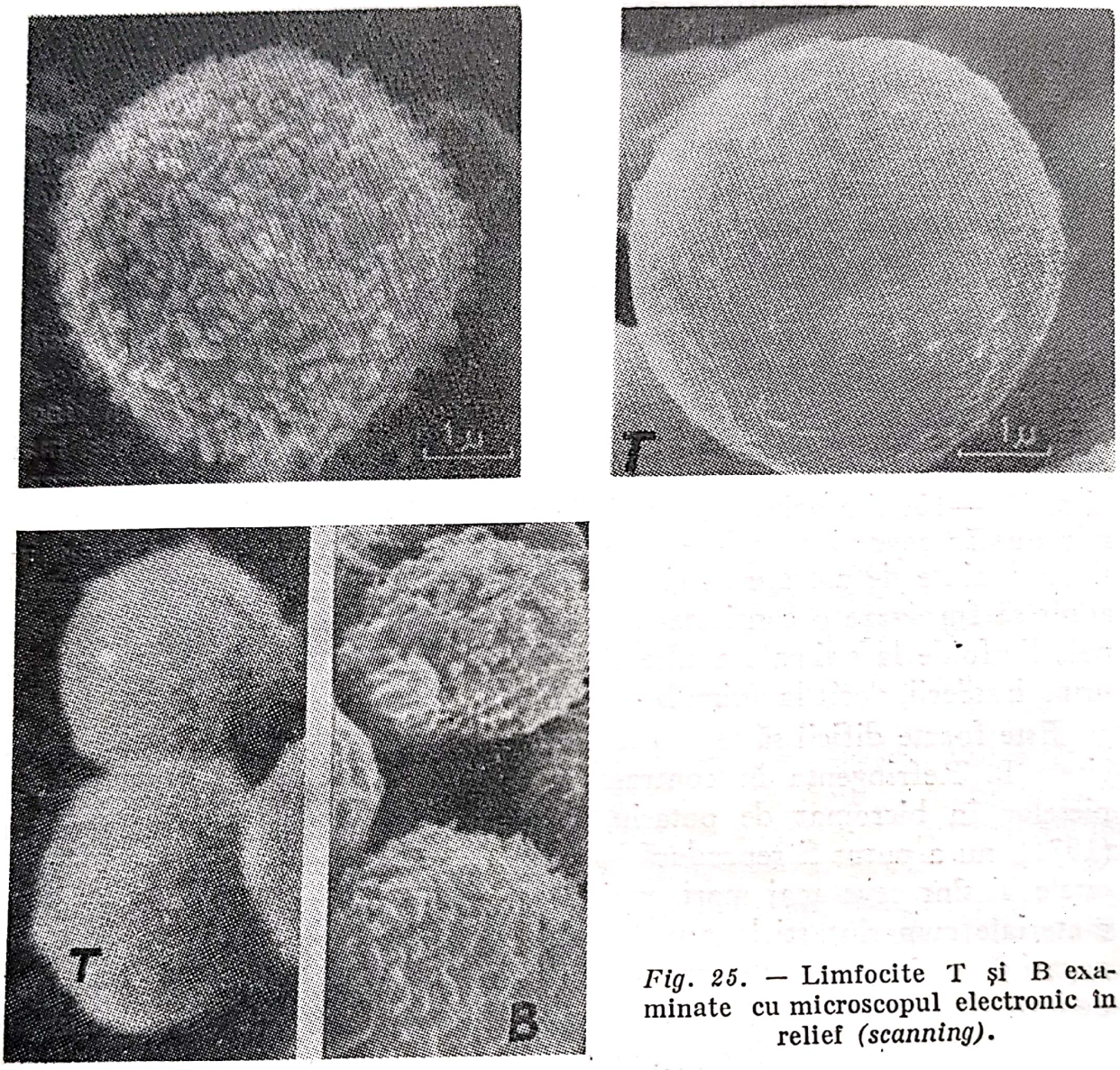


Fig. 25. — Limfocite T şi B examinate cu microscopul electronic în relief *(scanning)*.

Principalul criteriu de deosebire a diferitelor categorii de limfocite constă în determinarea proprietăţilor unor structuri de pe suprafaţa acestor celule capabile să reacţioneze cu diverse antigene, ca şi cu anticorpii sau complementul, numite *receptori* sau *markeri*. Rolul acestor receptori de a recunoaşte anumite structuri antigenice, declanşînd reacţia celulei faţă de aceştia, ca şi de a interveni în finalizarea reacţiei imune prin fixarea anticorpilor, complementului sau a complexelor antigen-anticorp-complement.

Scanned with OKEN Scanner

Există deci receptori pentru antigene de care se leagă în mod specific, după cum există receptori pentru anticorpi care se leagă de fracțiunea cristalizabilă (Fc) a anticorpului sau receptori pentru complement, care se leagă de diferitele fracțiuni ale complementului, în special de C3. Sînt de asemenea importanți receptorii pentru anumite substanțe de natură vegetală (fitomitogeni) care determină transformarea blastică a limfocitelor. În sfîrșit, s-au pus în evidență receptori pentru structurile de pe suprafața eritrocitelor unor specii, cu care limfocitele respective formează figuri în rozetă sau pentru anumite substanțe de natură microbiană (endotoxine) cu acțiune mitogenă.

În funcție de receptorii sau markerii lor, limfocitele T se recunosc după capacitatea de a se transforma blastic în contact cu fitohemaglutinina, concanavalina A sau extractul de linte; extractul de *Phytolacca americana* (pokeweed) determină transformarea blastică a ambelor categorii de limfocite. Limfocitele B se transformă blastic în contact cu diferiți lipopolizaharizi microbieni (în special endotoxina bacilului coli).

Limfocitele T formează în mod spontan rozete, numite rozete E (eritrocit), cu eritrocitele de oaie, ca și de porc, și, în măsură mai redusă, de numeroase alte specii. Limfocitele B formează astfel de rozete numai după ce eritocitele au fost sensibilizate cu antiserul respectiv în prezența complementului; de aici rezultă și numele de rozete EAC (eritrocit-anticorp-complement). Cu ajutorul acestor reacții s-a putut stabili proporția celor două categorii de limfocite la diverse niveluri. De exemplu, la om, limfocitele T constituie aproximativ 60% iar limfocitele B 32% din celulele limfoide ale sîngelui periferic (fig. 26, 27). Proprietatea celulelor B de a forma rozete cu eritrocite adsorbite cu proteina A stafilococică permite separarea lor dintr-o suspensie (Gheție și colab., 1975).

Limfocitele B prezintă pe suprafața lor receptori pentru Fc a anticorpilor, ca și pentru complement, putînd fixa complexe de antigen-anticorp-complement. Aceste reacții au rol important atît în reținerea antigenului și activarea celulelor respective, cît și în distrugerea unor celule străine, legate de limfocitele B prin anticorpi. Limfocitele T nu au astfel de receptori.

Receptorii limfocitelor B sînt de natură imunoglobulinică. Prin procedee de imunofluorescență se pot evidenția Ig pe suprafața limfocitelor B, serul anti-Ig inhibîndu-le capacitatea de a reacționa cu antigenul. Există din ce în ce mai multe dovezi că structura receptorului este identică cu Ig care va fi produsă de celulă, cu excepția faptului că unele celule purtătoare de receptori IgM pot pînă la urmă să dea naștere unor celule secretoare de IgG. Această modificare a structurii Ig secretate nu implică însă modificarea specificității reacției față de un anumit antigen.

Scanned with OKEN Scanner

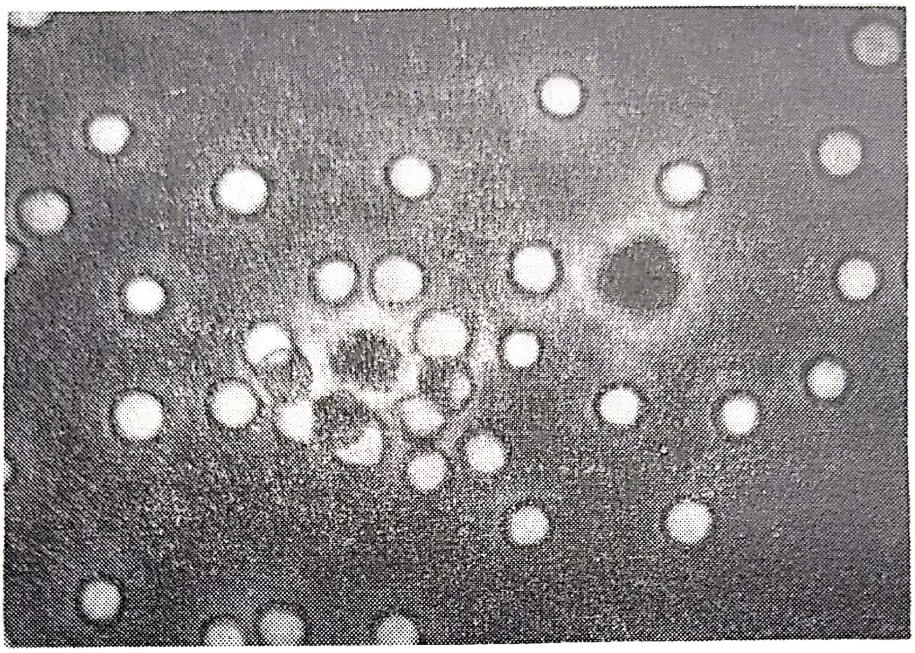


Fig. 26. — Limfocite T formînd spontan rozete cu eritrocite de oaie. Examen în contrast de fază (după Monica Crișan, 1975).

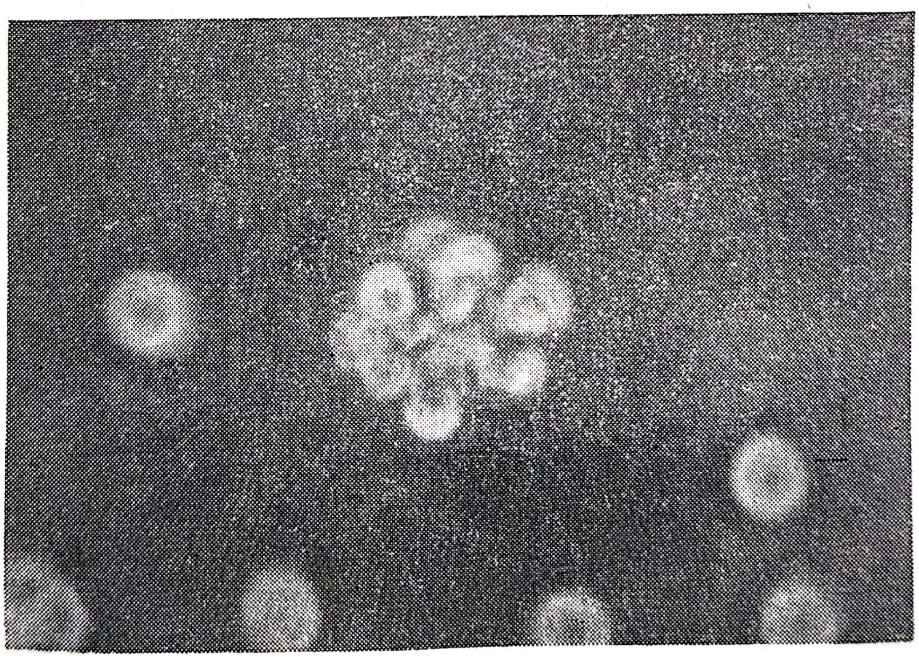


Fig. 27. — Rozetă în formă de morulă produsă de limfocitul T în prezența eritrocitelor de oaie. Examen în contrast de fază (după Monica Crișan, 1975).

Scanned with OKEN Scanner

Nu se cunoaşte structura receptorilor de pe suprafaţa limfocitelor T, în general nu s-au putut pune în evidenţă Ig. Se presupune că ei sînt codificaţi de genele Ir, care ar fi responsabile şi de unii receptori de natură ne-Ig ai limfocitelor B. Acest sistem de recunoaştere, care utilizează receptori ne-Ig ar fi analog sistemului primitiv de recunoaştere a structurilor străine de la nevertebrate. Există şi ipoteza după care receptorii limfocitelor T ar avea de asemenea o structură Ig, mascată însă de învelişul mai gros al acestor celule sau denaturată de procedeele de extracţie.

La şoarece, limfocitele T sînt purtătoare ale antigenului 0, limfocitele B ale antigenului MBLA (*mouse-specific B lymphocyte antigen*). Antiseruri faţă de aceste antigene permit purificarea unei suspensii de limfocite de una din categoriile de celule. Limfocitele B sînt mai sensibile la acţiunea radiaţiilor, cortizonului şi citostaticelor (ciclofosfamidă) decît limfocitele T. În schimb, acestea sînt distruse în mod electiv de serul antilifocitar.

Trebuie însă avut în vedere că metodele de caracterizare a celulelor limfoide prin determinarea receptorilor menţionaţi nu au o valoare cu totul absolută. De exemplu, cel puţin 2—4% din limfocitele periferice sînt în acelaşi timp purtătoare de Ig şi formatoare de rozete E, deci de receptori caracteristici ambelor tipuri de limfocite (Dickler şi colab., 1974). Trebuie însă luat în considerare faptul, demonstrat experimental de Hudson şi colab. (1976), că în anumite condiţii, limfocitele T activate pot fixa pe suprafaţa lor, prin intermediul receptorilor, complexe antigen-IgM, care pot fi puse apoi în evidenţă prin imunofluorescenţă. În acelaşi timp, limfocitele T activate prin contactul cu antigenul fixează, de asemenea prin intermediul receptorilor, proteina C reactivă, substanţă care apare în ser în cursul bolilor febrile sau cînd există procese patologice asociate cu necroză tisulară.

În sfîrşit, în sîngele periferic se întîlnesc celule limfoide care nu poartă pe suprafaţa lor receptori, cu excepţia celor pentru Fc a anticorpilor, deci nu produc rozete E. Ele sedimentează cu limfocitele B, dar nu au pe suprafaţa lor receptori Ig şi sînt prezente la pacienţii cu imunodeficienţe B; spre deosebire de macrofage, nu au proprietăţi fagocitare Ele au fost numite la început *celule K* (*killer*), datorită proprietăţii lor de a produce citoliză cu ajutorul anticorpilor, ceea ce ar putea preta la confuzie cu limfocitele T *killer*, celule cu acţiune citolitică specifică. Lipsa structurilor superficiale de recunoaştere, justificînd denumirea de „celule fără expresie", a sugerat termenul de celule N (*null cells*). Capacitatea lor de a produce citoliză fără o prealabilă sensibilizare a adus în discuţie şi numele de celule NK (*nonselective or natural killer*). Aceste celule limfoide apar ca o persistenţă a aparatului preimun de suprave-

Scanned with OKEN Scanner

ghere al animalelor inferioare, ele fiind capabile să recunoască şi să distrugă în mod nespecific sau neselectiv orice celulă diferită antigenic de restul organismului. În ultimul timp li se atribuie importată în rezistenţa organismului împotriva tumorilor maligne. Numărul lor ar fi mai scăzut în organismele cu cancer, după cum prezenţa lor la şoarecii cu agenezie genetică a timusului (*nude mice*) ar explica lipsa unei incidenţe semnificativ crescute a tumorilor maligne la aceste animale.

Importante deosebiri între diferitele categorii de limfocite reiese însă din comportarea lor în cursul desfăşurării reacţiei imune declanşate de diverse antigene.

3. ALTE CELULE INTERESATE ÎN REACŢIA IMUNĂ

Mai mulţi cercetători, printre care şi White (1965), consideră că şi alte celule ar putea fi participanţii silenţioşi ai reacţiei imune. Cercetările lui Rebuck şi colab. (1964) sau Vaitkevicius şi colab. (1962) conduc la concluzia că *leucocitele polinucleare* n-ar juca rol în cursul reacţiei imune specifice, întrucît afluenţa lor la nivelul procesului inflamator se produce şi în cazul autotransplantului. După Godleski (1970), fenomenul de atragere a granulocitelor de către celulele tumorale, în culturi de ţesuturi, ar fi totuşi expresia unui fenomen de specificitate.

Unele aspecte observate în cursul reacţiilor imune sugerează în special participarea *polinuclearelor eozinofile* la acţiunea de captare şi prelucrare a antigenului. După Speirs (1963), în cazul în care macrofagele sînt incapabile să metabolizeze antigenul şi sînt distruse în urma încorporării lui, materialul antigenic este recuperat de polinucleare, în special de eozinofile, care îl digeră şi îl prezintă apoi într-o formă convenabilă macrofagelor, de care sînt fagocitate. În acest fel se poate declanşa o reacţie imună normală. Aspecte care sugerează contacte între granulocite, macrofage şi limfocite, exprimînd o posibilă trasmitere de informaţie antigenică, au fost observate de Macavei (1965) sau de Carmen Stroilă (1972), atît *in vitro*, cît şi la nivelul unor produse patologice (fig. 28). Se consideră astăzi că eozinofilele sînt capabile să fagociteze complexe de antigen-anticorp, să neutralizeze histamina şi serotonina şi să medieze reacţii inflamatorii. Se pare că migrarea eozinofilelor la nivelul unui focar inflamator este stimulată de un factor produs de limfocitele T sau de timus.

Mastocitele au un rol important în reacţiile imune de tip anafilactic, cînd imunoglobuline E ataşate de suprafaţa lor, întîlnind antigenul, induc degranularea acestor celule, eliberînd histamină şi alte substanţe responsabile de producerea şocului anafilactic (fig. 29).

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 28. — Citoaderență între limfocit și polinuclear neutrofil cu vacuole de fagocitoză, sugerînd cooperare în cursul reacției inflamatorii. Col. May-Grünwald-Giemsa (după Carmen Stroilă, 1972).

Fig. 29. — *Mastocit*. Imagine electronooptică (după Csaba, 1972).

B. DINAMICA REACȚIEI IMUNE

Observațiile microscopice sugerează că cel puțin *in vivo* macrofagele reprezintă o populație celulară cu rol esențial în declanșarea reacției imune, deși *in vitro* activarea limfocitelor poate fi indusă direct de contactul cu antigenul. Pentru aceasta pledează hiperplazia de macrofage, care este determinată întotdeauna de pătrunderea unui antigen într-un organism, ca și predilecția lor de a încorpora material antigenic și calitatea lor de purtători de anticorpi citofili. În acest sens, există importante dovezi experimentale asupra necesității prezenței macrofagelor într-un anumit moment sau în anumite momente ale procesului de formare a anticorpilor (Globerson și Auerbach, 1967), ca și asupra faptului că unele reacții imune sînt efectuate de macrofage purtătoare ale anticorpilor specifici produși de limfocite (Granger și Weish, 1966).

În orice caz, introducerea în organism a unor structuri antigenice sau potențial antigenice (celule, microbi, substanțe chimice capabile să se combine cu proteine ale organismului) determină la locul inoculării apariția unui exsudat a cărui formulă citologică, predominată în primele

24 de ore de granulocite, este, după acest interval, predominată de macrofage. Macrofagele sînt probabil responsabile de pătrunderea antigenului în ganglionii regionali în primele minute după introducerea lui în organism. În orice caz, marcarea antigenului cu izotopi radioactivi arată o încărcare maximă a macrofagelor din ganglionii regionali la 4—24 de ore după administrarea acestuia.

Studii de microscopie electronică le-au permis lui Nossal şi Ada (1971) să urmărească fazele succesive ale încorporării antigenului de către macrofagele ganglionare (fig. 30). După o trecătoare ataşare a antigenului de membrana macrofagului, se produce rapid o invaginaţie numită caveolă, care strîmtîndu-se progresiv la polul extern, se transformă într-o veziculă care se detaşează de suprafaţa celulară. Prin aceasta, antigenul este captat printr-un proces de pinocitoză, care se desfăşoară în timp de cîteva minute. În jurul veziculei, în scopul digerării materialului captat, se acumulează protolizozomi, mici incluzii bogate în enzime, care fuzionează cu vezicula de ingestie transformînd-o într-un fagolizozom, cavitatea în care antigenul este supus unei digestii enzimatice. În timpul digestiei, fracţiuni din antigen sînt eliminate din celulă, probabil prin intermediul unui proces de pinocitoză inversă sau exopinocitoză.

Se pare că durata digestiei depinde de natura materialului antigenic: cu cît acesta are o structură mai complexă, cu atît digestia va fi mai lungă şi el va persista mai mult în interiorul macrofagului. De multe ori

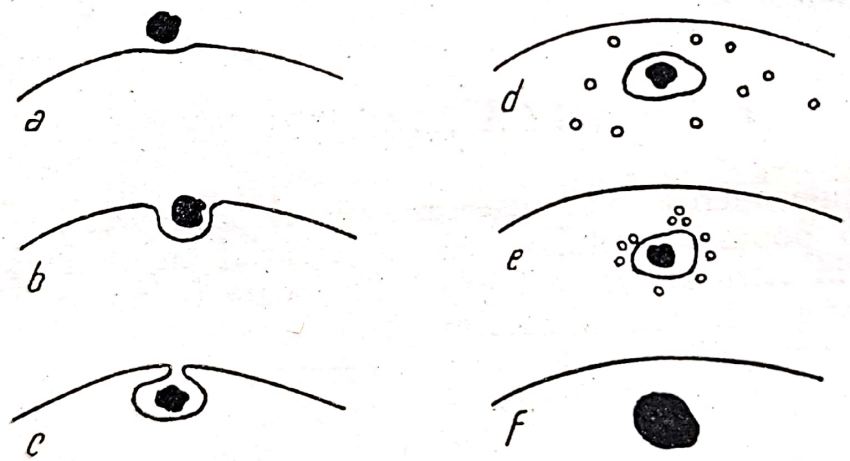


Fig. 30. — **Fazele încorporării antigenului de către macrofag (după Nossal, 1972).**

însă, antigenul persistă luni de zile în interiorul macrofagelor ganglionare sau splenice, sau la suprafaţa lor, constituind probabil o condiţie importantă pentru stimularea antigenică continuă a limfocitelor din vecinătate. În acest sens, rolul macrofagelor în cursul reacţiei imune ar consta în primul rînd în transformarea unor particule antigenice complexe în structuri mai simple, formă sub care sînt prezentate limfoci-

Scanned with OKEN Scanner

telor. Importanţa activităţii proteazelor din lizozomii macrofagelor ganglionare în desfăşurarea reacţiei imune a fost subliniată în special de Elena Gabrielescu şi Moraru (1974).

O comportare asemănătoare prezintă şi celulele cu funcţie macrofagică din splină, mai ales cînd antigenul pătrunde în circulaţie. În astfel de cazuri, în conformitate cu observaţiile lui White (1963), după 48 de ore antigenul este reţinut în special de macrofagele de la periferia foliculilor limfatici sau de la nivelul centrilor germinali, unde hiperplazia şi hipertrofia lor produc un aspect caracteristic de cer înstelat (fig. 31). Acest aspect coincide cu intensificarea activităţii enzimatice, în special a enzimelor lizozomale (fig. 32). White insistă în special asupra importanţei celulelor numite, datorită formei lor de obicei alungită şi extensiunilor citoplasmatice, celule dendritice, care, atît prin aspectul morfologic, cît şi prin proprietatea lor de a se impregna cu nitrat de argint, seamănă cu microglia. Dacă antigenul pătrunde în toate celulele cu funcţie macrofagică din ganglioni şi splină (macrofage amiboide din lumenul sinusurilor, celule

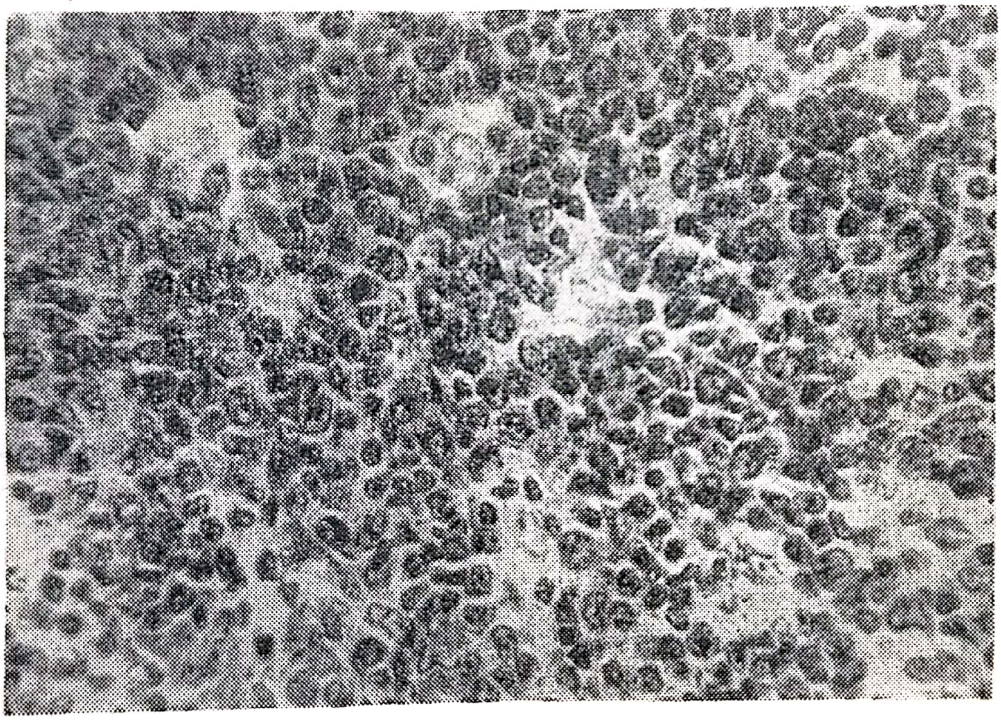


Fig. 31. — Hiperplazie de macrofage în ganglionul limfatic realizînd aspectul de cer înstelat. Col. H-E.

endoteliale sinusale, macrofage stelate din medulara ganglionului sau pulpa roşie splenică), el persistă mai mult timp numai în macrofagele din zona paracorticală sau de la periferia pulpei albe.

Aceste observaţii i-au determinat pe unii cercetători să afirme că macrofagele ar îndeplini rolul de a transmite limfocitelor o informaţie

Scanned with OKEN Scanner

antigenică sub formă de complex antigen-ARN, numit de Fishman (1961) ARN-imunogen, iar de Brigitte Askonas şi Rhoades (1965), „superantigen". Posibilitatea inducerii formării de anticorpi specifici de către limfocite, sub acţiunea ARN extras din macrofage sensibilizate faţă de un anumit antigen, pledează în acelaşi sens.

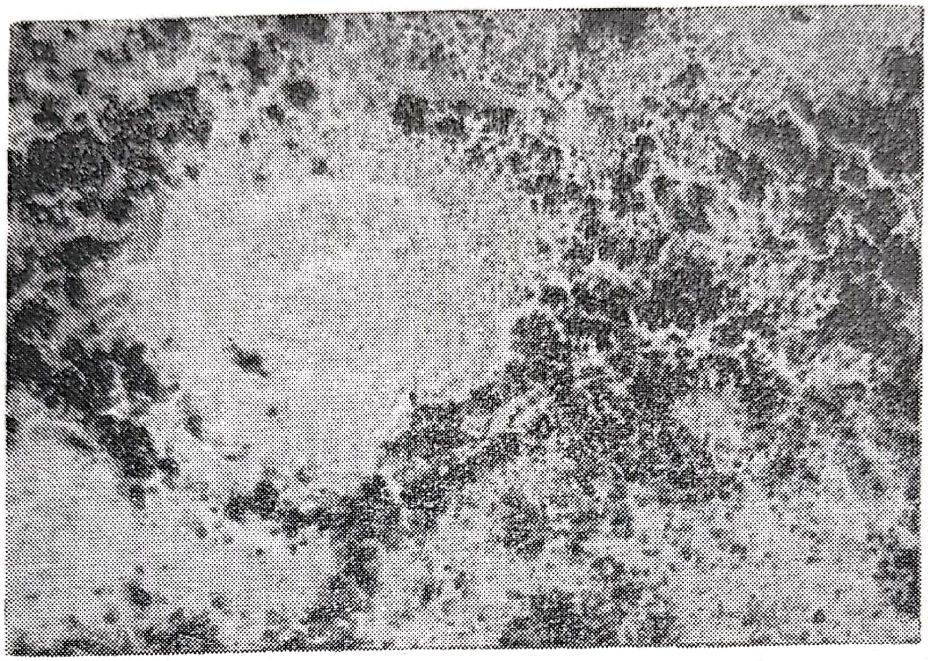


Fig. 32. — Intensificarea activităţii enzimatice a macrofagelor perifoliculare în ganglionul limfatic. Col. Epstein-Dorfman pentru fosfatază alcalină.

Celulele dendritice au fost studiate de Nossal şi Ada (1971) şi la nivelul foliculilor ganglionari; ei au arătat că aceste celule au aceleaşi caractere ca şi cele din splină. Prin faptul că au proprietatea de a reţine antigenul pe suprafaţa lor, timp îndelungat, fără să-l pinociteze sau să-l descompună prin digestie, ele n-ar face parte din sistemul macrofagic propriu-zis (fig. 33). Probabil că antigenele nu se fixează pe suprafaţa acestor celule decît după ce au format complexe cu anticorpi naturali sau determinaţi

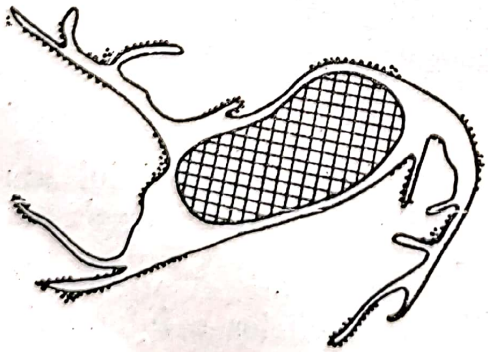


Fig. 33. — Celulă dendritică (după Nossal, 1972).

de pătrunderea lor în organism. În ultima eventualitate, localizarea foliculară a antigenului ar reprezenta o dovadă a existenţei de anticorpi faţă de acest antigen. Rolul acestor celule în reacţia imună este subliniat de raporturile lor strînse cu limfocitele T din zona paracorticală şi limfocitele B din folicul, cărora le prezintă antigenul.

În afară de sistemul macrofagic ganglionar sau splenic, antigenele sînt reţinute şi de alte celule cu funcţie macrofagică în organism, în special de celulele Kupffer din endoteliul capilarelor sinusoide hepatice, care se hipertrofiază şi îşi intensifică activitatea enzimatică (fig. 34). Rolul acestor

Fig. 34. — Intensificarea activităţii adenozintrifosfatazei în celulele Kupffer din ficatul unui organism stimulat imunologic. R. Wachstein — Meisel.

celule, care nu se găsesc în raport direct cu efectoarele reacţiei imune, ar fi de a îndepărta surplusul de antigen din circulaţie, stabilind o concentraţie optimă a acestuia şi evitînd o paralizie imunologică. În măsură mai redusă se întîlneşte hiperplazia celulelor histiocitare din *pia mater* şi prelungirile sale perivasculare (Mureşan şi Simu, 1965) (fig. 35, 36) sau a macrofagelor alveolare şi perivasculare pulmonare, cu intensificarea activităţii lor enzimatice (Eskenasy, 1971).

Dacă macrofagele sînt, cel puţin în anumite condiţii, iniţiatorii reacţiei imune, efectorii acestei reacţii sînt limfocitele, care, după cum s-a menţionat, sînt capabile să reacţioneze şi direct cu antigenul. Această capacitate derivă din condiţionarea lor genetică, în timpul ontogenezei, de a reacţiona cu unul sau cu un număr limitat de antigene, în conformitate cu ipoteza selecţiei clonale.

În mod obişnuit, întîlnirea şi combinarea antigenului cu receptorii corespunzători de pe suprafaţa limfocitelor duc la stimularea diviziunii şi diferenţierii acestor celule în efectori ai reacţiei imune. Există şi situaţii

Scanned with OKEN Scanner

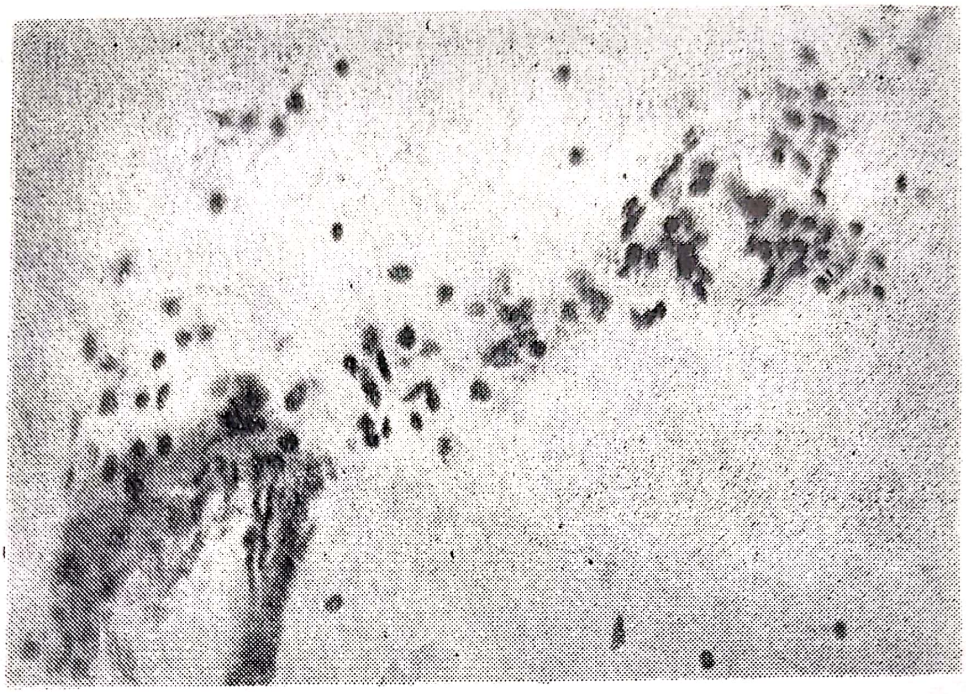


Fig. 35. — Hiperplazie histiocitară la nivelul *piei mater*, în condiţii de stimulare antigenică.

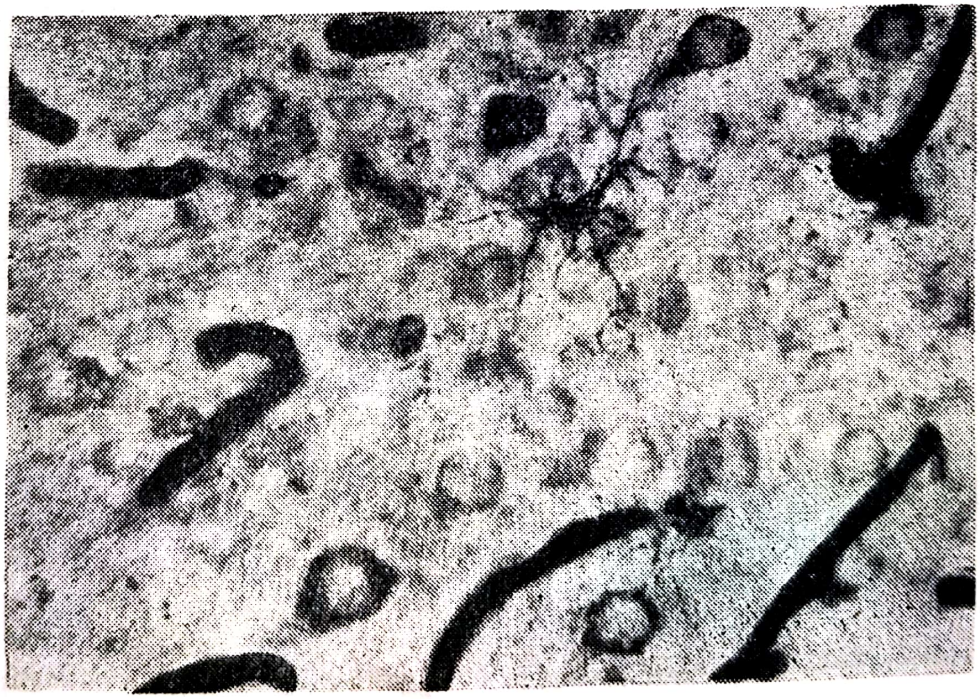


Fig. 36. — *Microglie*. Impregnaţie cu carbonat de argint amoniacal del Rio Hortega.

Scanned with OKEN Scanner

în care, în funcţie de anumite particularităţi ale acestui contact, limfocitele nu reacţionează, apărînd blocate sau inactivate: se produce fenomenul de toleranţă sau paralizie imunologică. Modalitatea de reacţie depinde în primul rînd de natura şi concentraţia antigenului, ca şi de raporturile complexe care se stabilesc între limfocite şi macrofage. Macrofagele apar deci, cel puţin *in vivo*, ca avînd un rol important în antrenarea limfocitelor în acţiunea de recunoaştere a antigenului şi în comportarea lor consecutivă acestei recunoaşteri. În general, limfocitele T reacţionează la cantităţi mai mici de antigen, fiind paralizate de concentraţiile foarte mici sau foarte mari. Limfocitele B, insensibile la concentraţii mici de antigen, sînt paralizate cu precădere de concentraţiile mari.

Activarea limfocitelor în urma contactului cu antigenele pare că se datoreşte unei modificări structurale şi redistribuiri a receptorilor legaţi de membrana celulară. O expresie morfologică a acestor modificări este fenomenul de „capping" sau formare de scufie (*cap*), care constă în aglomerarea moleculelor de Ig pe suprafaţa unor limfocite B activate de ser anti-Ig, concanavalină A sau alţi factori. La microscopul electronic, moleculele de Ig apar ca nişte aglomerări care formează la unul din polii celulei un fel de scufie, la nivelul căreia moleculele dislocate de la suprafaţă apar înglobate în nişte vezicule. În urma acestei modificări, limfocitele respective rămîn mai mult timp lipsite de receptori superficiali. Fenomenul relevă proprietatea pe care o au unele structuri proteice de la nivelul membranei celulare (cum sînt, de exemplu, şi antigenele) de a fi cu uşurinţă dislocate din legăturile lor labile cu stratul fluid lipidic al acestei membrane. Structura scufiilor formate depinde şi de natura reacţiilor care le-au indus. Astfel, în timp ce scufiile formate prin acţiunea serurilor anti-Ig sau a concanavalinei A asupra receptorilor Ig sînt rapid ingerate prin endocitoză, aglomerările produse de acţiunea serurilor specifice asupra diferitelor antigene sînt mai puţin sau nu sînt înglobate în interiorul celulei. Localizarea scufiei depinde şi de natura celulei: în timocite ea se aranjează în regiunea opusă aparatului Golgi, în timp ce în limfocitele de origine splenică se localizează la nivelul acestui aparat. Ultima variantă de scufie poate fi parţial inhibată de citocalazina B, substanţă care suprimă mişcările celulare prin ruperea microfilamentelor contractile citoplasmatice, indicînd importanţa acestor structuri în apariţia unora din aceste scufii.

În conformitate cu datele experimentale, celulele T sînt primele limfocite care intervin în reacţie în urma capacităţii lor de a reacţiona direct cu antigenul. Strînsa corelaţie dintre macrofage sau celule dendritice şi zonele paracorticale populate de limfocitele T îndreptăţesc presupunerea că, de cele mai multe ori, *in vivo*, activarea acestor limfocite se face prin intermediul acestor celule. În orice caz, cam la 24 de ore după introducerea antigenului, apar în această zonă celule mari, cu citoplasmă intens bazofilă şi pironinofilă în urma bogăţiei în ribozomi, cu nucleoli, cu caracter

Scanned with OKEN Scanner

limfoblastic. Este vorba de un aspect *in vivo* al fenomenului de *transformare blastică*, pe care limfocitele mici îl prezintă în culturi sub acţiunea mitogenilor sau a unor antigene. Modificarea este expresia unei sinteze rapide de ADN, ARN şi proteine, care în cazul ADN este de trei ori mai mare decît în limfocitele neactivate, ceea ce permite identificarea celulelor blastice prin încorporarea mare de timidină marcată (fig. 37). Prin studii de citoenzimologie electronooptică, Elena Gabrielescu şi Moraru (1975) au

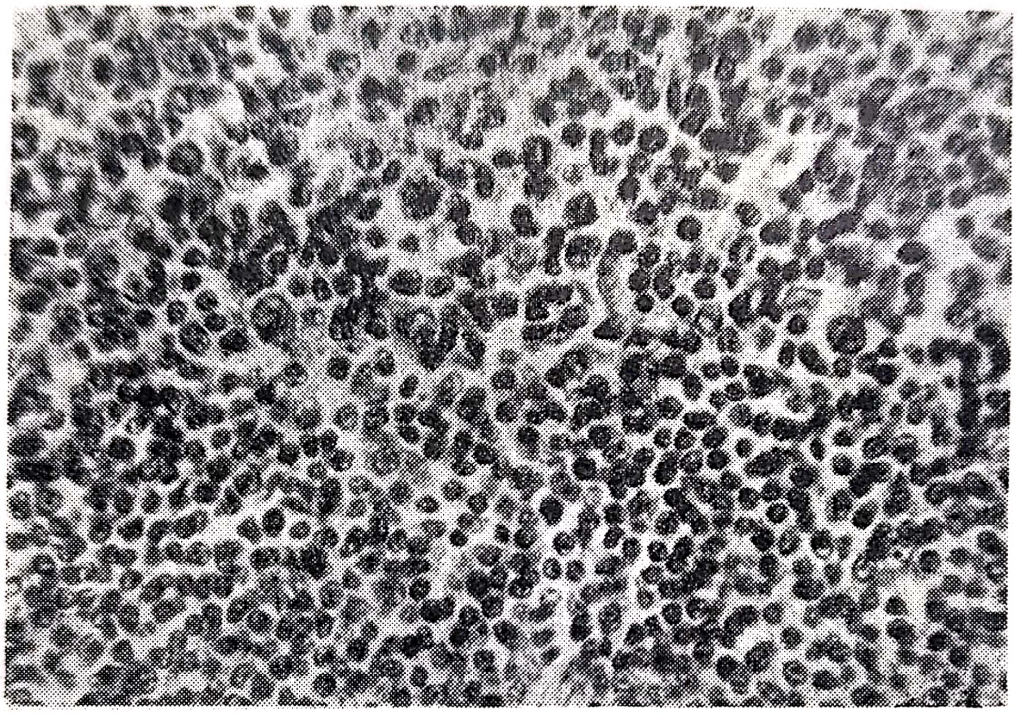


Fig. 37. — Transformarea blastică a limfocitelor T în zona paracorticală. Col. H-E.

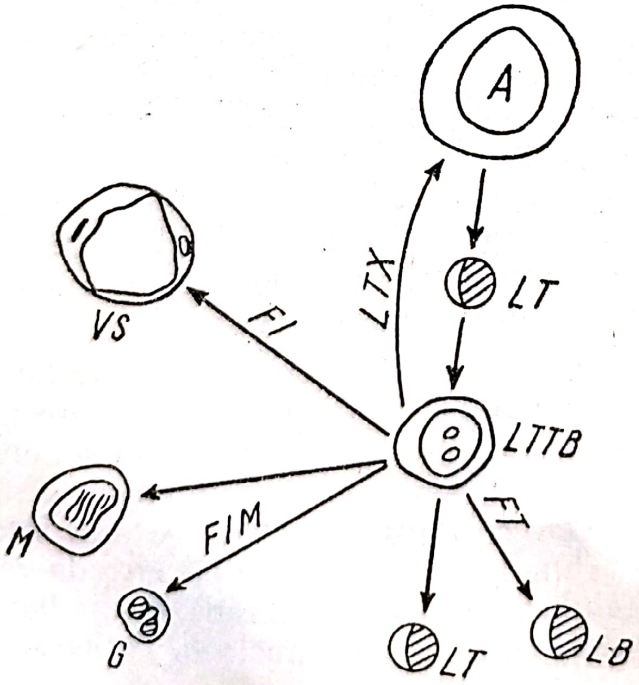


Fig. 38. — *Limfokinele produse de limfocitele T în cursul transformării blastice*:

A = antigen; *LT* = Limfocit *T*, *LTTB* = limfocit T transformat blastic; *LTX* = limfotoxine; *VS* = vas sanguin; *FI* = factori inflamatori; *M* = macrofag; *G* — granulocit; *FIM* — factori de inhibiţie a motilităţii; *LB* — limfocit B; *FT* = factori de transfer.

Scanned with OKEN Scanner

arătat că transformarea blastică se însoţeşte de activarea sistemului lizozomal din limfocitele T. Din aparatul Golgi hipertrofiat se dezvoltă lizozomi primari, la nivelul cărora se evidenţiază activitatea fosfatazei acide. Aceştia fuzionează, dînd naştere unor lizozomi secundari, fie de tip lizozomal, responsabili de procese de autofagie, fie de tip crinofagozomal, capabili să producă prin hidroliză parţială anumite substanţe active.

Într-adevăr, activarea limfocitelor T şi transformarea lor blastică se însoţeşte de producerea unor substanţe numite *limfokine* sau factori solubili de activare a reacţiei imune, în special a componentei sale celulare (fig. 38).

Limfotoxinele sau factorii citotoxici produc distrugerea celulelor histoincompatibile, probabil printr-un mecanism de alterare a membranei celulare. Producerea lor este stimulată de acţiunea fito-hemaglutininei, streptolizinei O, PPD, histoplasminei sau a serului antilimfocitar şi inhibată de citostatice sau de unele substanţe toxice. Apar şi în culturile mixte de limfocite sau prin cultivarea limfocitelor în prezenţa unui antigen faţă de care fuseseră sensibilizate.

Factorii inflamatori măresc permeabilitatea vasculară şi, prin aceasta, afluxul celular la nivelul procesului inflamator. Mai bine cunoscut este *factorul de permeabilitate vasculară,* care extras din limfocitele ganglionului de cobai, creşte permeabilitatea vasculară cînd este injectat în pielea de şobolan, producînd acumularea de granulocite şi monocite. El este structural diferit de *factorii chemotactici,* care atrag aceleaşi celule la nivelul focarului inflamator. Asemănător este şi *factorul de reacţie cutanată,* care, inoculat în piele, determină o reacţie identică celor de hipersensibilitate cutanată, datorită unui aflux de celule mononucleare. Foarte studiaţi sînt factorii de inhibiţie a migrării unor leucocite, în special *factorul de inhibiţie a migrării macrofagelor:* contactul dintre limfocite şi antigenul faţă de care au fost sensibilizate duce la inhibiţia capacităţii de migrare a macrofagelor prezente la nivelul respectiv; fenomenul poate fi apreciat cantitativ. Apariţia factorului este determinată de expunerea limfocitelor la antigen. Există, de asemenea, un *factor de agregare a macrofagelor,* care induce aglutinarea acestor celule, după cum există *factori de inhibiţie a migrării granulocitelor,* mai puţin studiaţi. *Factorii mitogeni* induc transformarea blastică a altor limfocite.

În sfîrşit, de o atenţie deosebită, datorită perspectivelor de aplicare practică, se bucură *factorul de transfer,* prezent numai la primate; prin intermediul lui sensibilitatea unui organism poate fi transferată altui organism prin inocularea de lizate limfocitare. Această sensibilitate persistă timp de mai multe săptămîni sau luni (Lawrence, 1969). Este format din mai multe fracţiuni, în constituţia cărora intră ribonucleoproteine rezistente la acţiunea ribonucleazei. Capacitatea acestui factor de a transfera rezistenţa faţă de antigenul respectiv a fost preconizată ca metodă în tra-

Scanned with OKEN Scanner

tamentul unor boli condiţionate de reacţii de imunitate celulară. În acest sens, s-au obţinut succese în tratamentul unor micoze şi se preconizează metoda în tratamentul stărilor de imunodeficienţă şi al tumorilor maligne.

Consecutiv transformării blastice, limfocitele T se diferenţiază în celule efectoare ale reacţiilor imune de tip celular, responsabile în primul rînd de *respingerea transplantelor histoincompatibile*, de *reacţia grefa-contra-receptor*, de *rezistenţa împotriva tumorilor maligne* şi de *reacţiile de hipersensibilitate întîrziată* (a căror expresie caracteristică sînt intradermoreacţiile). Imunitatea de tip celular are un rol important şi în unele *infecţii*, în special de natură virală sau fungică, şi în unele *boli de autoagresiune*.

Nu se cunoaşte încă cu precizie mecanismul prin care limfocitele T activate produc aceste efecte: direct sau şi cu ajutorul altor celule (macrofage), al complementului sau al complexului anticorp-complement. În unele situaţii se poate demonstra, *in vitro*, acţiunea citolitică a limfocitelor T activate, numite din această cauză „celule ucigaşe" (*killer cells*). Cînd astfel de limfocite sînt puse în contact cu celule faţă de care au fost sensibilizate (limfocitele unui pacient cu propriile celule tumorale sau cu grefa pe care a eliminat-o), ele se deplasează şi aderă de acestea. Această aderenţă fermă, care nu poate fi desfăcută printr-o agitare uşoară, se face prin intermediul prelungirilor citoplasmatice, numite uropode. În cîteva ore după stabilirea acestui contact, celulele ţintă încep să se umfle, devin sferice, îşi pierd mobilitatea şi se dezintegrează. Fenomenul de citoliză este maxim la 24—48 de ore. Marcarea celulelor ţintă cu ^{51}Cr permite o apreciere cantitativă prin măsurarea radioizotopului eliberat prin distrugerea celulelor în lichidul de cultură.

Desigur, limfotoxinele amintite au un rol în producerea fenomenului, dar acţiunea lor este nespecifică, în contrast cu specificitatea fenomenului de citoliză imună. Imposibilitatea punerii în evidenţă a unor anticorpi specifici s-ar datora, după Billingham (1967), existenţei unor anticorpi eliberaţi numai în momentul contactului sau legaţi de suprafaţa limfocitului. Se pune şi problema unui tip special de anticorp, încorporat la nivelul membranei limfocitului şi activat de contactul intim al acesteia cu celule ţintă. În sfîrşit, s-ar putea ca numai recunoaşterea celulei ţintă să aibă un caracter de specificitate imună, ducînd la stabilirea aderenţei de celula ţintă; citoliza ar fi urmarea nespecifică a acestei faze, indusă de eliberarea, în urma acestui contact, a unor substanţe active, nespecifice, în genul histaminei, responsabile de citoliză. Experimental s-a putut demonstra intensificarea acţiunii citolitice a limfocitelor T activate prin intervenţia „potenţiatoare" a anticorpilor serici specifici (Skurzak şi colab., 1972).

Observaţii mai recente au demonstrat că în cadrul celulelor T există mai multe populaţii, identice morfologic, dar cu roluri diferite în reacţia imună. Astfel, limfocitele T capabile să recunoască antigenul şi să reacţio-

Scanned with OKEN Scanner

neze cu el sînt diferite de celulele T efectoare, care acţionează asupra celulelor purtătoare ale acestui antigen (Fritz Bach şi Miriam Segal, 1973). O a treia categorie de limfocite T, rezultate în urma sensibilizării, nu se angajează în reacţia actuală, rămînînd în rezervă. Ele vor constitui substratul reacţiei care se va produce la un nou contact cu antigenul respectiv (reacţie secundară); aceasta va decurge mai rapid, mai amplu, în consecinţă mai eficient decît la primul contact (reacţia primară). Aceste limfocite sensibilizate sînt numite „celule cu memorie".

Dacă limfocitele T nu secretă anticorpi propriu-zişi, ele joacă rol important în angajarea limfocitelor B, viitoare secretoare de anticorpi, în reacţia imună faţă de majoritatea antigenelor. Limfocitele T dotate cu acest rol auxiliar (*helper cells*) se caracterizează, după Feldman şi Shraga Segal (1972), printr-o deosebită sensibilitate la cortizon, în comparaţie cu restul limfocitelor T. Este mult discutat mecanismul prin care limfocitele T antrenează în reacţie limfocitele B. Limfocitele T ar reacţiona cu un determinant al structurii antigenice respective, facilitînd prin aceasta reacţia limfocitelor B cu alţi determinanţi ai aceleiaşi structuri. În acest sens s-au propus mai multe scheme: realizarea unei punţi de antigen între receptorii celulelor T şi B sau stabilirea unei astfel de punţi prin intermediul antigenului între receptorii celulelor B şi receptori detaşaţi de pe suprafaţa celulelor T, aderînd eventual de macrofage (Raff, 1973). Ulterior, ar fi posibil ca prin intermediul acestei punţi, antigenul să fie servit limfocitelor B într-o formă prelucrată, concentrată, multivalentă. Puntea respectivă ar putea realiza un contact intim între cele două categorii de limfocite, ducînd la activarea limfocitelor B, printr-un fenomen de membrană sau prin eliberarea de mediatori chimici (fig. 39). *In vitro,* s-a putut pune în evidenţă eliberarea de către limfocitele T a unor factori specifici asemănători IgM, numiţi şi IgX (probabil receptori), încărcaţi cu antigen şi preluaţi ulterior de mecrofage (Feldman, 1972), cu rol în activarea limfocitelor B. Aceasta, pe lîngă producerea de către aceleaşi limfocite T activate a unor factori cu acţiune nespecifică de stimulare a limfocitelor B (Waldmann şi Munro, 1974) (fig. 40). Existenţa acestor factori solubili specifici şi nespecifici de activare a limfocitelor B explică experienţele care reuşesc să determine producerea de anticorpi specifici de către culturi de celule B activate de adăugarea lichidului supranatant al unei culturi de limfocite T sensibilizate faţă de antigenul respectiv (Taussig, 1974).

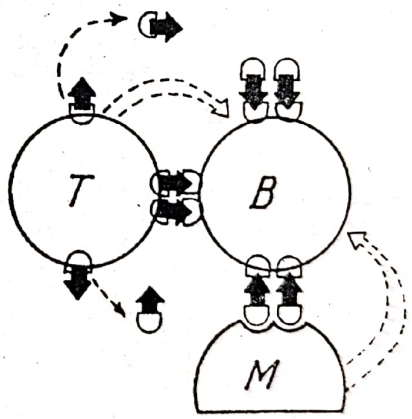


Fig. 39. — Posibilităţi de activare a limfocitului B de către limfocitul T (după Raff, 1972)

Scanned with OKEN Scanner

În orice caz, activarea limfocitelor B de către antigen declanşează diviziunea şi diferenţierea lor în celule blastice. Dispoziţia predominant foliculară a limfocitelor B face ca acest fenomen să se traducă microscopic prin hipertrofia centrilor germinali pe seama unor celule mari, cu

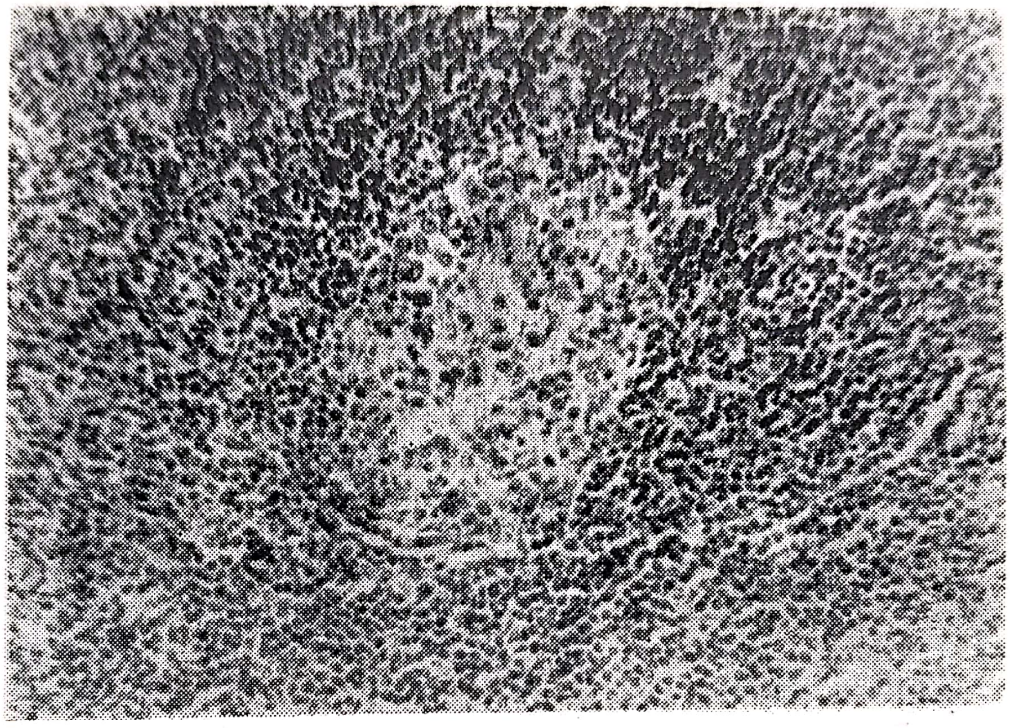


Fig. 40. — Hipertrofia centrilor germinali pe seama hiperplaziei limfocitelor B, col. H-E.

nucleu nucleolat, cu citoplasmă intens pironinofilă (fig. 41). Aceste celule blastice se vor diferenţia, pe de o parte, în plasmocite secretoare de Ig, care la vreo săptămînă după solicitarea antigenică se regăsesc în mare număr în cordoanele medulare ganglionare şi în cordoanele splenice (fig. 42, 43), iar pe de altă parte, în celule B cu memorie, capabile să reproducă rapid, la un nou contact cu acelaşi antigen, o reacţie imună secundară (fig. 44). Există mai multe categorii de Ig, diferite ca structură şi proprietăţi (IgM, IgG, IgA, IgD, IgE), problemă care va fi discutată într-un capitol următor. Responsabile de componenta umorală a reacţiei imune, de producerea de anticorpi, limfocitele B şi derivatele lor celulare au un rol determinant în rezistenţa împotriva infecţiilor microbiene, în special a toxiinfecţiilor. Considerate mult timp ca progenitori ai celulelor secretoare de anticorpi specifici, s-a constatat recent că limfocitele B sînt capabile să producă, în cursul transformării blastice, limfokine, în special factori de inhibiţie a migrării macrofagelor şi factori mitogeni (Mackler, 1972).

Scanned with OKEN Scanner

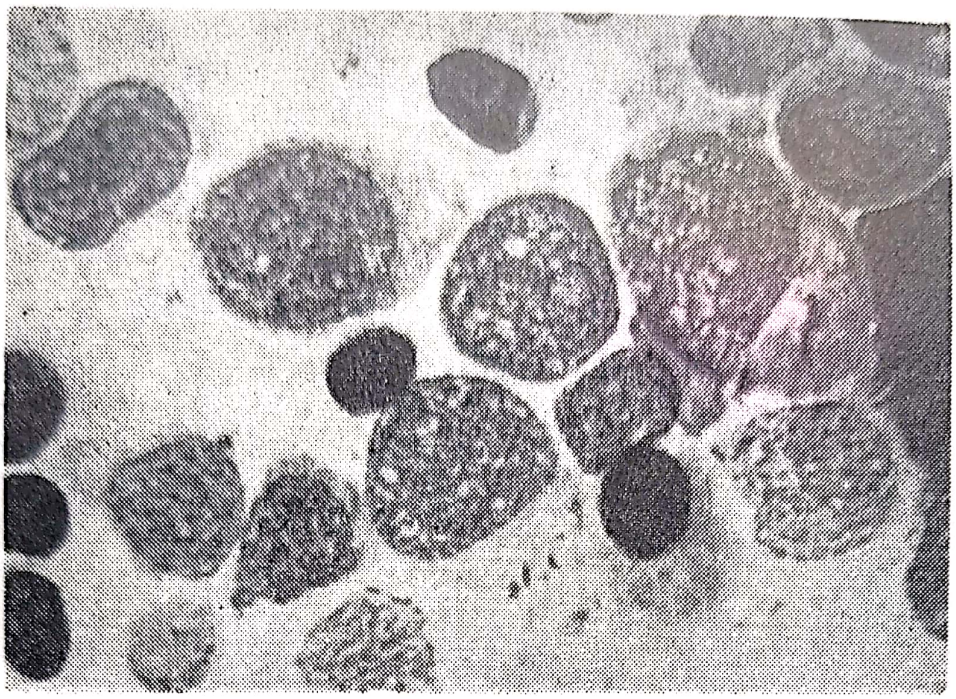


Fig. 41. — Limfocite transformate blastic. Col. May-Grünwald-Giemsa (după Macavei, 1975).

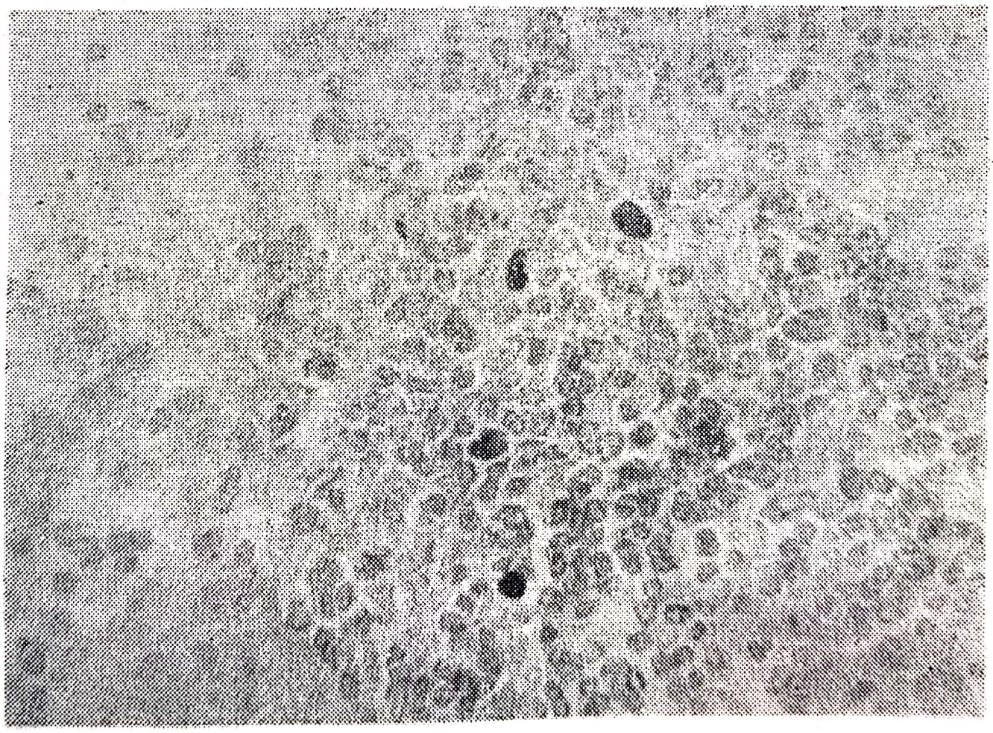


Fig. 42. — Plasmocite pironinofile în cordoanele medulare ale ganglionului limfatic. Col. Brachet-Kurnick cu verde metil-piro-nină.

Scanned with OKEN Scanner

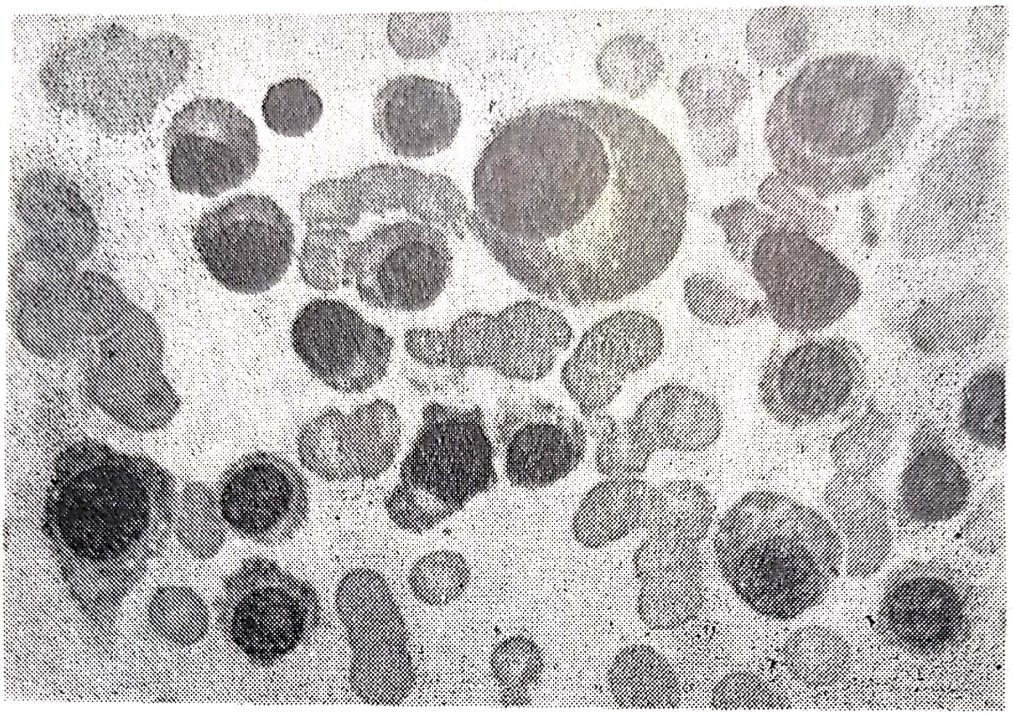


Fig. 43. — Diferite stadii de maturare a plasmocitelor într-un ganglion limfatic stimulat. Col. May-Grünwald-Giemsa (după Macavei, 1976).

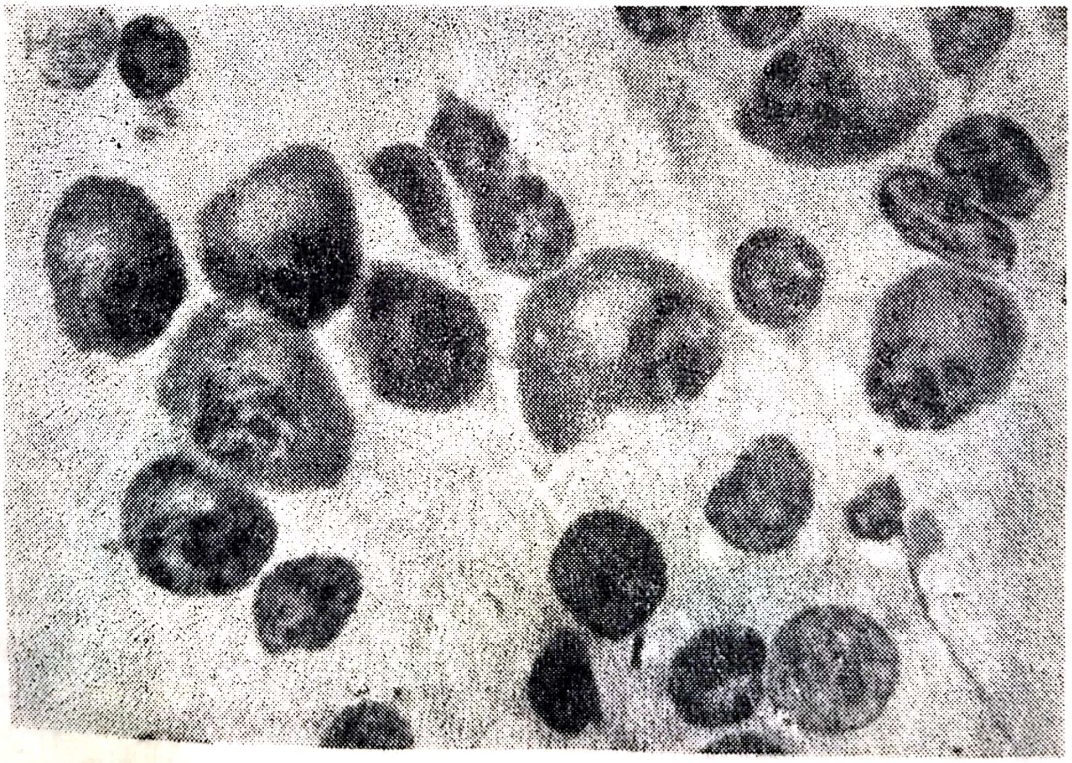


Fig. 44. — Plasmocite. Punctie ganglionară. Col. May-Grünwald-Giemsa (după Macavei, 1976).

Scanned with OKEN Scanner

Plasmocitele au, în general, dimensiunile limfocitelor mici (6—10 microni), de care diferă prin forma mai ovală, nucleul mai mic și excentric, a cărui cromatină grosolană desenează mai evident aspectul de spițe de roată. Citoplasma este intens bazofilă și pironinofilă, datorită diferențierii în aceste celule a unui bogat reticul endoplasmatic rugos, format din spații cuprinse între două membrane paralele, pe suprafața cărora se găsesc ribozomi. La nivelul acestor formațiuni se secretă Ig. Diferențierea limfocitelor B transformate blastic în plasmocite se traduce tocmai prin acumularea reticulului endoplasmatic, trecîndu-se prin stadiul intermediar de plasmoblast, celulă mai mare, cu nucleu de asemenea mai mare. Se pare că viața plasmocitelor este de aproximativ cîteva săptămîni.

Pe lîngă acțiunea lor directă în efectuarea reacțiilor imune de tip umoral, Ig au și rolul subtil de a controla angajarea limfocitelor T și B în reacție, printr-o competiție cu receptorii acestora pentru diferiți determinanți antigenici. Ele pot împiedica contactul antigenului cu acești receptori prin formarea de complexe antigen-anticorp inductoare de toleranță. Dimpotrivă, ele pot contribui la stimularea reacției imune, favorizînd localizarea antigenului la nivelul zonelor reactive ale țesutului limfoid prin formarea de complexe antigen-anticorp puternic imunogene. În acest ultim sens se presupune că înseși celulele B pot transporta antigenul sub forma unor complexe antigen-anticorp, la care se atașează uneori complementul. Uneori, Ig se pot lega de antigenele deja fixate de receptorii limfocitelor T, stabilizînd această fixare (Hudson și colab., 1974). Există și rezultate care sugerează că limfocitele B ar fi capabile să ucidă celule străine care au fixat în prealabil anticorpi.

Existența antigenelor timus-independente cu care clonele de limfocite B pot reacționa direct subliniază că o colaborare între cele două categorii de limfocite nu este totdeauna necesară pentru declanșarea procesului de producere a anticorpilor. În schimb, există categorii de limfocite T capabile să inhibe activitatea limfocitelor B, după cum pot să stimuleze sau să inhibe activitatea celorlalte limfocite T. Aceste celule supresoare joacă un rol important în controlul și efectuarea reacției imune, alături de celulele efectoare și auxiliare. Se consideră că rolul principal al celulelor supresoare este de a preveni formarea de anticorpi, întrucît aceste celule apar deficiente în stări autoimune, consecutiv unei predispoziții genetice sau unor infecții virale. Dacă funcția supresoare este exercitată de populații speciale de limfocite, după cum pledează unele experiențe recente, utilizarea acestor celule în bolile de autoagresiune ar putea avea importante consecințe terapeutice. Pentru moment, nu există dovezi incontestabile în acest sens, nici în ceea ce privește presupunerea că aceste celule ar acționa prin distrugerea punților de antigen dintre receptorii celulelor angajate în reacția imună.

Scanned with OKEN Scanner

Pe lîngă limfocitele T şi B, în cursul reacţiei imune intervin şi celulele limfoide amintite anterior ca celule K sau N. Aceste celule pot să producă citoliză în mod specific printr-un fenomen de „armare": seruri imune conţinînd complexe de antigen-anticorp în care anticorpii sînt în exces leagă limfocitele N, prin intermediul receptorilor pentru Fc, de celulele ţintă, inducînd citoliza lor (Perlmann şi Holm, 1969). Se pare însă că aceste celule cu proprietăţi citotoxice nespecifice sau neselective ar putea acţiona şi direct asupra celulelor histoincompatibile şi probabil asupra altor structuri antigenice (Takasugi şi colab., 1977).

De asemenea, macrofagele, active în declanşarea reacţiei imune, intervin şi în finalizarea ei, de data aceasta specific, în urma proprietăţii lor de a se arma fixînd pe suprafaţa lor anticorpi. Această acţiune este stimulată de factori produşi de limfocitele T.

În concluzie, reacţia imună apare în general iniţiată de *macrofage,* care recunosc, interceptează, prelucrează şi transmit antigenul *limfocitelor,* celule capabile de reacţie imună specifică (imunocite). *Limfocitele T,* care pot reacţiona şi direct cu cei mai mulţi antigeni, se transformă blastic, producînd *limfokine* cu rol în amplificarea reacţiei imune. Pe lîngă aceste limfocite T, cu rol în *recunoaşterea* antigenului, există limfocite T *efectoare* ale reacţiilor imune de tip celular (citoliză, reacţii de hipersensibilitate întîrziată), precum şi limfocite T, care deşi sensibilizate, nu intervin în reacţie, rămînînd în rezervă pentru eventualitatea unui nou contact cu antigenul respectiv (*celule cu memorie*). *Limfocitele B,* de cele mai multe ori antrenate în reacţie de limfocitele T, se diferenţiază în *plasmocite,* celule formatoare de anticorpi (IgM, IgG, IgA, IgD, IgE) şi *limfocite B sensibilizate* (celule cu memorie). Desfăşurarea reacţiei este controlată de celule cu acţiune *auxiliară* sau *supresoare.* Distrugerea structurilor antigenice este rezultatul unei acţiuni complexe la care participă, pe lîngă limfocitele T, limfocitele B şi anticorpii secretaţi de ele, *macrofagele, complementul,* precum şi alţi factori umorali sau celulari (*limfocite K*) (fig. 45). Un nou contact cu acelaşi antigen determină o reacţie mai rapidă şi de multe ori mai eficientă, datorită existenţei celulelor cu memorie. Aceasta explică respingerea mai rapidă a unui transplant sau formele inaparente ori uşoare de boală infecţioasă şi constituie caracterul anamnestic sau *memoria* imunităţii.

Histologic, toate aceste modificări se traduc prin *hiperplazia macrofagelor* din ganglionii regionali (de la nivelul endoteliului sinusal, din cordoanele medulare şi în special din zona corticală, ultima modificare generînd cunoscutul aspect de cer înstelat). Hiperplazia macrofagelor din alţi ganglioni, din splină şi ficat (celulele Kupffer) poate însoţi în măsură

Scanned with OKEN Scanner

mai mult sau mai puţin exprimată reacţia din ganglionii regionali. Ea este urmată de transformarea blastică a limfocitelor T din zona paracorticală şi a limfocitelor B de la nivelul centrilor germinali, ducînd la hipertrofia evidentă a ambelor zone; ulterior, este însoţită de înmulţirea limfocitelor atît la nivelul periferiei centrului germinal, cît şi în zona paracorticală şi în cordoanele medulare. În această ultimă regiune, proli-

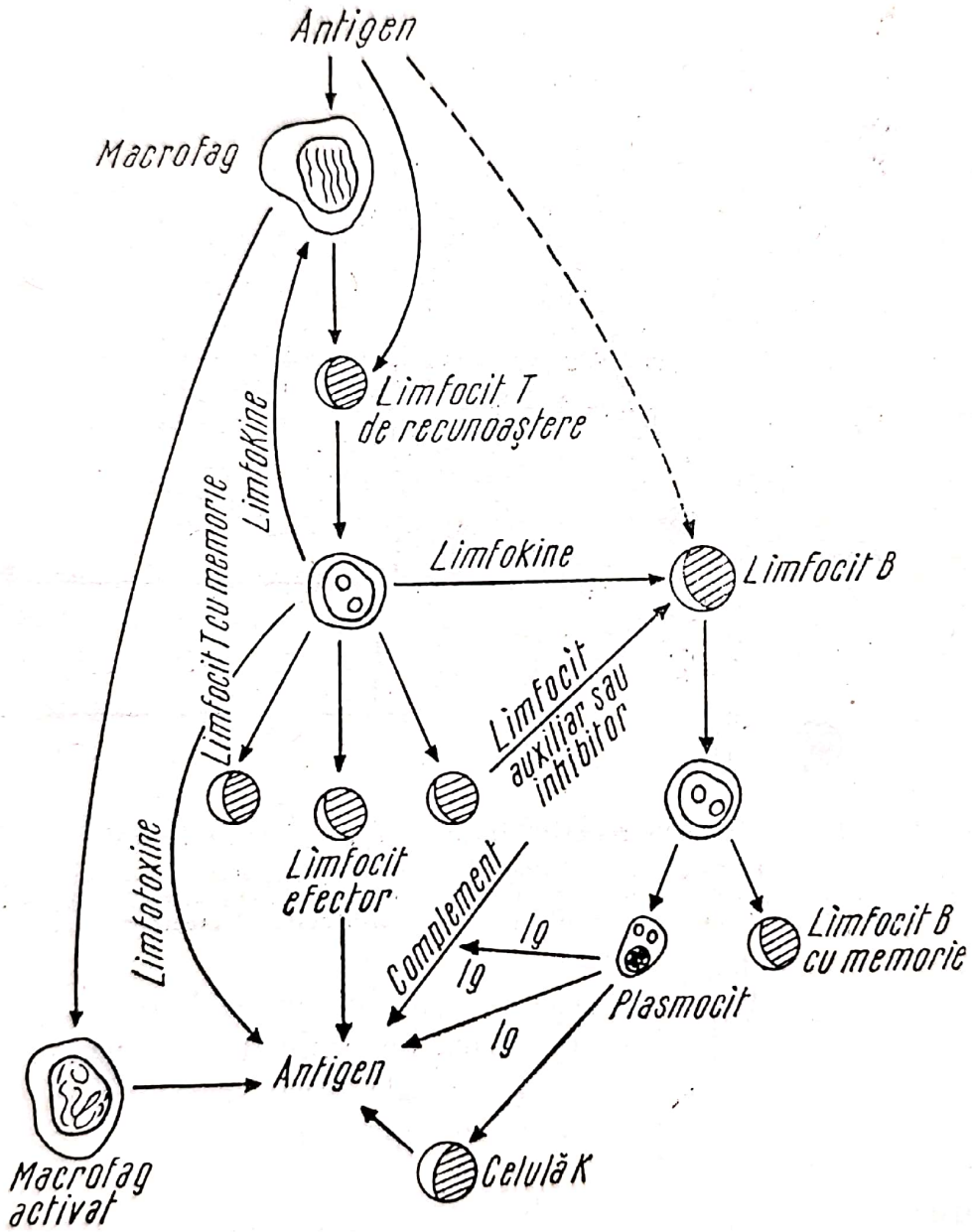


Fig. 45. — Schema generală a reacţiei imune.

ferarea limfoidă este concomitentă apariţiei unui număr apreciabil de plasmocite pironinofile (fig. 46). Toate aceste modificări constituie ansamblul cunoscutei hiperplazii difuze limforeticulare, sau al limfadeni-

Scanned with OKEN Scanner

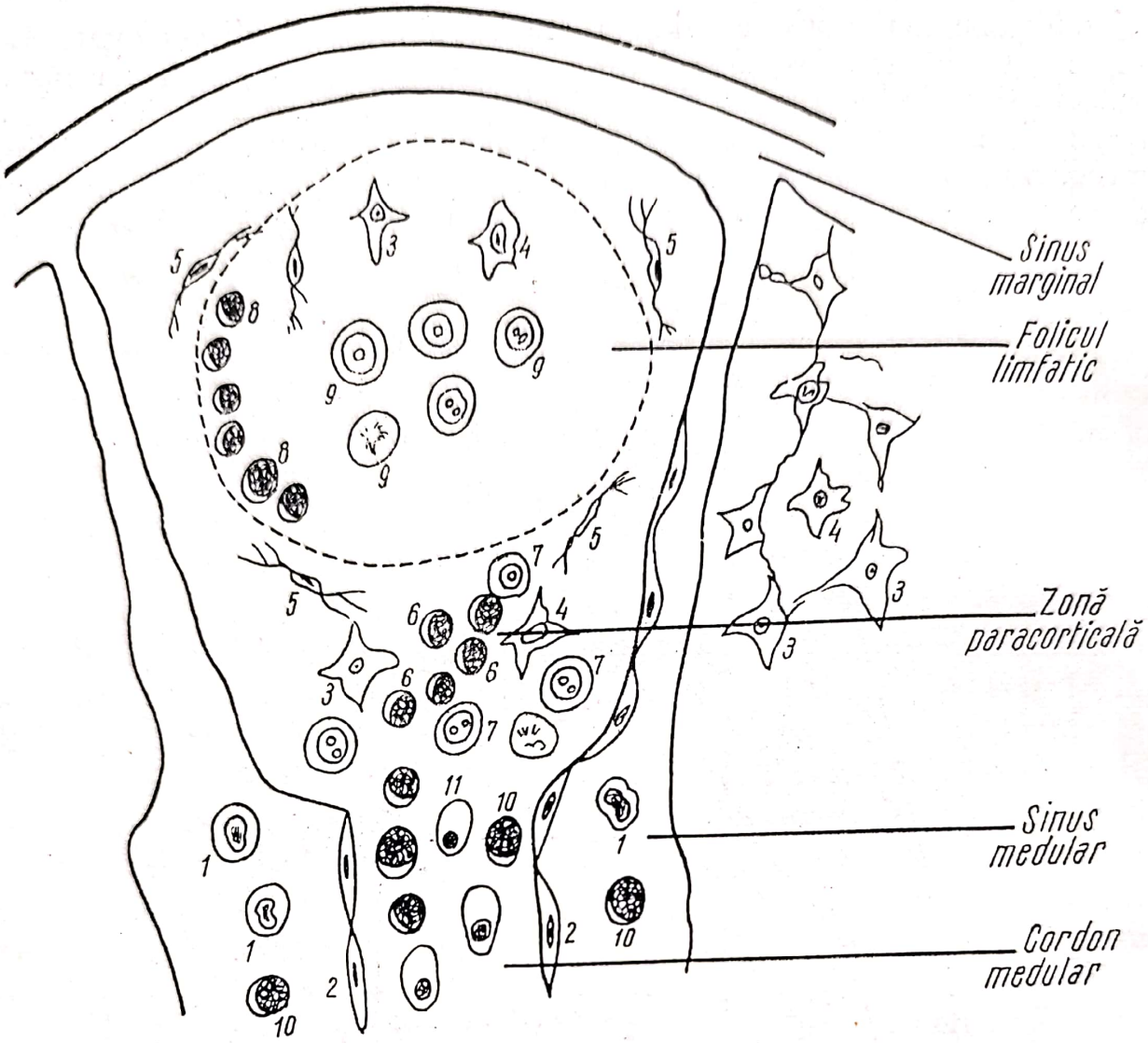


Fig. 46. — Schema reacţiei imune în ganglionul limfatic:
1 — macrofag liber; *2* — macrofage endoteliale; *3* — celule reticulare; *4* — macrofage interstiţiale; *5* — celule dendritice; *6* — limfocite T; *7* — limfocite T transformate blastic; *8* — limfocite *B*; *9* — limfocite *B* transformate blastic; *10* — limfocite T efectoare; *11* — plasmocite.

tei (fig. 47). În funcţie de natura antigenului, tabloul histologic poate fi dominat de una sau alta din modificările amintite: hiperplazia macrofagelor endoteliale sau histiocitoza sinusală, hipertrofia zonei paracorticale, hipertrofia centrilor germinali cu hiperplazie limfocitară şi plasmocitară în cordoane.

Structura microscopică a ganglionului este de obicei păstrată în reacţii imune eficiente cum sînt reacţiile antitransplant, dar şi în vaccinări sau bolile infecţioase benigne. În infecţii cu evoluţie defavorabilă, în boli de autoagresiune sau în cancer, tabloul microscopic este complet modificat de fenomene inflamatorii sau degenerative care exprimă incapacitatea reacţiei imune de a rezolva agresiunea (supuraţie, necroză, fibroză, for-

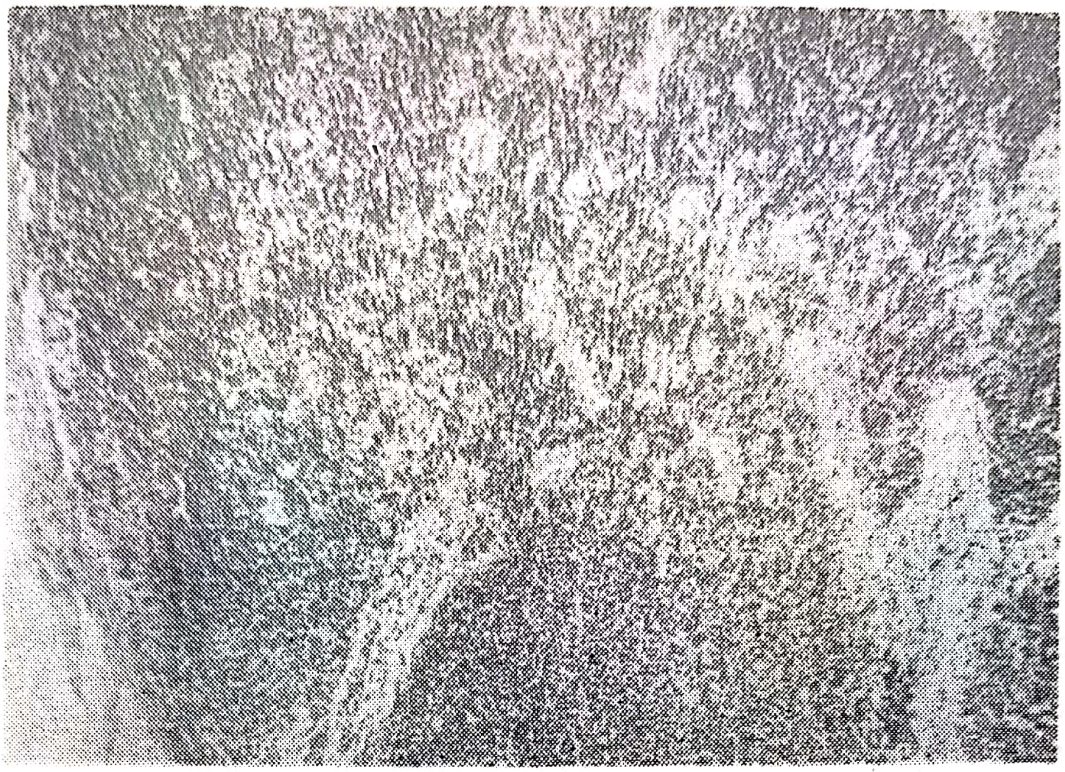


Fig. 47. — Limfadenită reactivă. Col. H-E.

marea de granuloame, metastaze tumorale). În sfîrşit, în unele cazuri de reacţii imune anormale, prelungite, intensitatea hiperplaziei macrofagelor sau limfocitelor poate să ducă la „escaladarea" în leziuni de tip leucemic sau sarcomatos.

C. ASPECTE HISTOLOGICE ŞI SEMNIFICAŢII ALE REACŢIEI IMUNE ANTITUMORALE

Şi în acest domeniu, Virchow (1880) a fost primul care a sugerat că existenţa unui proces inflamator şi a fibrozei în interstiţiul tumorilor maligne este indicele unei rezistenţe active a organismului împotriva propriei sale tumori, constituind deci un semn relativ favorabil.

Sugestiile sale au fost confirmate de observaţii ulterioare, care au arătat că în organismul pacienţilor cu cancer se produce o hiperplazie de macrofage şi limfocite foarte asemănătoare celei întîlnite în alte reacţii imune, sub anumite aspecte foarte asemănătoare reacţiei antitransplant. Această reacţie poate fi urmărită în special în interstiţiul tumorii şi în ganglionii regionali, studiul ei putînd furniza importante date prognostice.

Scanned with OKEN Scanner

Consecutiv observației lui Virchow, studiile asupra reacției din interstițiul tumorilor maligne au arătat că intensitatea, extensiunea și formula citologică a infiltratelor inflamatorii din jurul placardelor tumorale variază în funcție de localizarea, forma histologică și vîrsta tumorii. Prezența granulocitelor, inclusiv a eozinofilelor, este semnalată în special în tumorile „deschise" la nivelul unor suprafețe expuse infecției microbiene și este în mod neîndoielnic legată de necroza și infecția tumorilor respective.

După Masson (1956), reacția inflamatorie precede și însoțește îndeaproape proliferarea tumorală. Această reacție se poate stinge mai mult sau mai puțin repede, infiltratul inflamator transformîndu-se în țesut de granulație și apoi în țesut conjunctiv. Spre deosebire de reacția inflamatorie produsă de microbi, unde organizarea infiltratului inflamator se face la distanță de germenii patogeni și de raza lor de acțiune, constituind o barieră, inflamația canceroasă apare în plină zonă de invazie și, într-un anumit moment, în loc de a se opune proliferării tumorale, o susține, vasele țesutului de granulație nutrind tumoarea. Invadat de cancer, organismul reacționează, dar învins, suferă legea cuceritorului: reacția inflamatorie antitumorală devine stroma tumorii.

Albertini (1956) consideră formarea stromei tumorale ca un proces reactiv secundar, din aspectul căruia se pot deduce anumite concluzii asupra vitezei de creștere, respectiv a vîrstei tumorii. O stromă redusă indică un cancer recent, modificările degenerative — o viteză de creștere moderată. Infiltrația inflamatorie deosebit de frecventă în stroma tumorilor maligne este considerată o reacție la substanțele toxice eliberate de tumoare. Ea este constituită de obicei din limfocite și plasmocite, uneori leucocite polimorfonucleare și un număr variabil de eozinofile. Nu s-a putut demonstra dacă această reacție are importanță în sensul unei apărări a țesuturilor normale față de tumoare, afirmă Albertini. Reacția pare mai degrabă legată de procese de resorbție a produșilor tumorali, limfocitele și probabil plasmocitele fiind capabile să neutralizeze substanțe toxice. Eozinofilele reprezintă semnul unei destrucții tisulare, în special a țesutului muscular. Această reacție inflamatorie apare și ca o dovadă a transformărilor intense ale țesutului tumoral, deci ca un indiciu indirect de malignitate, fără să poată fi considerată însă un indice al gradului de malignitate. Față de aceste concepții clasice, care subliniază în special semnificația reactivă a infiltratului inflamator interstițial și importanța lui în geneza stromei, impresionează prin actualitatea sa, afirmația lui Mac Carty (1922) că infiltrația limfoidă, ca și fibroza și hialinoza interstițială, reprezintă expresia unor „factori reactivi" cu valoare prognostică în cancerele mamare. Practica a verificat această afirmație mai ales în privința carcinomului medular al sînului, tumoare

Scanned with OKEN Scanner

malignă cu un prognostic relativ favorabil, în ciuda unei anaplazii exprimate. O infiltrație abundentă limfoidă a interstițiului, pe lîngă o importantă reacție conjunctivă peritumorală, sînt cele două elemente microscopice care exprimă o reacție neobișnuit de eficientă în cancer. În aprecierea malignității histologice a tumorilor mamare, Ackerman (1970) încadrează această tumoare în grupul tumorilor mamare rar metastazante. Haagensen (1974) recunoaște, de asemenea, că această tumoare, aparent foarte malignă prin anaplazia histologică și viteza de creștere rapidă, metastazează mai puțin frecvent și are un prognostic mai favorabil decît carcinomul mamar obișnuit. Boyd (1963) consideră, de asemenea, infiltrația limfoplasmocitară exprimată din dermul sau corionul subiacent unui carcinom intraepitelial cutanat sau de col uterin ca indicele unei reacții a organismului împotriva procesului tumoral, explicînd evoluția îndelungată intraepitelială sau chiar regresiunea spontană a acestor tumori.

Pe baza acestor considerații, clasificarea tumorilor mamare, după O.M.S. (1968), reține semnificația prognostică favorabilă a infiltratului limfocitar din stroma tumorilor mamare și exclude carcinomul medular de la gradingul histologic obișnuit, datorită comportării sale particulare. Kochoukos și Ackerman (1967), pe aceste considerente, au putut să prezică gradul de extensiune al carcinoamelor medulare mamare din intensitatea reacției limfocitare apreciate prin examen microscopic intraoperator. Metastazele axilare au fost prezente în 23 de cazuri în care această reacție lipsea. Inoguchi și colab. (1967) consideră, de asemenea, reacția inflamatorie din stroma cancerelor gastrice ca un semn prognostic favorabil.

Dacă în unele condiții nu se poate nega eficacitatea reacției inflamatorii din interstițiul tumorilor maligne, expresie a reacției imune antitumorale, nu trebuie să uităm însă că, după cum a subliniat Boyd (1963), această reacție este mai degrabă o amenințare decît o realitate.

2. GANGLIONII LIMFATICI LA PACIENȚI CU CANCER

În 1953, Maurice Black și colab. au afirmat, pe baza unor cercetări sistematice și a unor observații clinice îndelungate, că prezența în ganglionii axilari ai pacientelor cu cancer mamar a unei hiperplazii de macrofage, care umple și destinde capilarele sinusoide, așa-numita *histiocitoză sinusală* (fig. 48), constituie un semn prognostic favorabil. O histiocitoză sinusală pronunțată, în lipsa metastazelor ganglionare, este de obicei asociată cu o supraviețuire de peste 5 ani, în timp ce absența acestei histiocitoze, chiar în lipsa metastazelor, indică de cele mai multe ori apariția recidivelor sau metastazelor în primii 5 ani. În prezența metastazelor, chiar dacă există, histiocitoza îmbracă un caracter degenerativ: histiocitele hiperplaziate au aspect edematos și vacuolar și for-

Scanned with OKEN Scanner

mează sinciţii (histiocitoză sinciţială degenerativă sau de epuizare). Fenomenele degenerative apar evidente în special prin impregnarea argentică: în contrast cu macrofagele sau histiocitele normale, care îşi păstrează forma stelată şi metalofilia, celulele degenerate apar cu un contur impre-

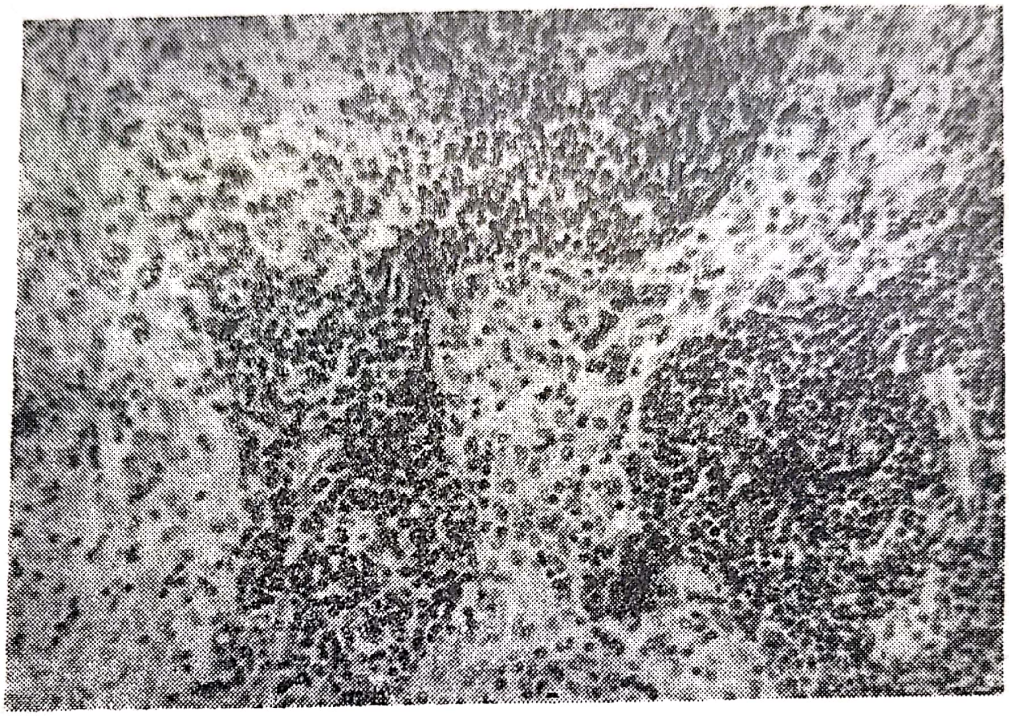


Fig. 48. — Histiocitoză sinusală. Col. H-E.

cis şi prezintă o fragmentare granulară a citoplasmei. Ulterior, Black a extins aceste concluzii şi asupra altor localizări ale cancerului, considerîndu-le ca expresia histologică a unei reacţii imune eficiente.

Contestată de unii, mai ales de John Berg (1956, 1971), valoarea orientativă prognostică a criteriului lui Black este admisă de majoritatea specialiştilor, atît în localizarea mamară, cît şi în alte localizări ale cancerului (Marsé şi Chassaigne, 1962; Anastassiades şi Pryce, 1966; Silk, 1967; Hilf şi colab., 1970; Bennett şi colab., 1971). Propriile noastre observaţii confirmă valoarea orientativă prognostică a prezenţei unei hiperplazii a macrofagelor endosinusale în ganglionii axilari ai pacientelor cu cancer. De fapt, în ultimul timp, Berg (1973) a recunoscut implicit valoarea prognostică a simptomului, considerînd că hipertrofia pe bază de hiperplazie celulară reactivă a ganglionilor din vîrful axilei reprezintă un semn de evoluţie favorabilă.

Lucrări mai recente, în special cele ale lui Turk (1969) sau Roitt (1971) asupra unor modalităţi diferite de reacţie a ganglionilor limfatici, în funcţie de solicitarea antigenică predilectă a limfocitelor T şi B, au sugerat utilizarea în scop prognostic a studiului diferenţiat al acestei

Scanned with OKEN Scanner

reacţii (Cottier, Turk şi Sobin, 1972). În acest sens, în cancer, un semn prognostic favorabil l-ar constitui în special *hipertrofia zonei paracorticale*, considerată că ar indica o reacţie imună mediată predominant celular (fig. 49).

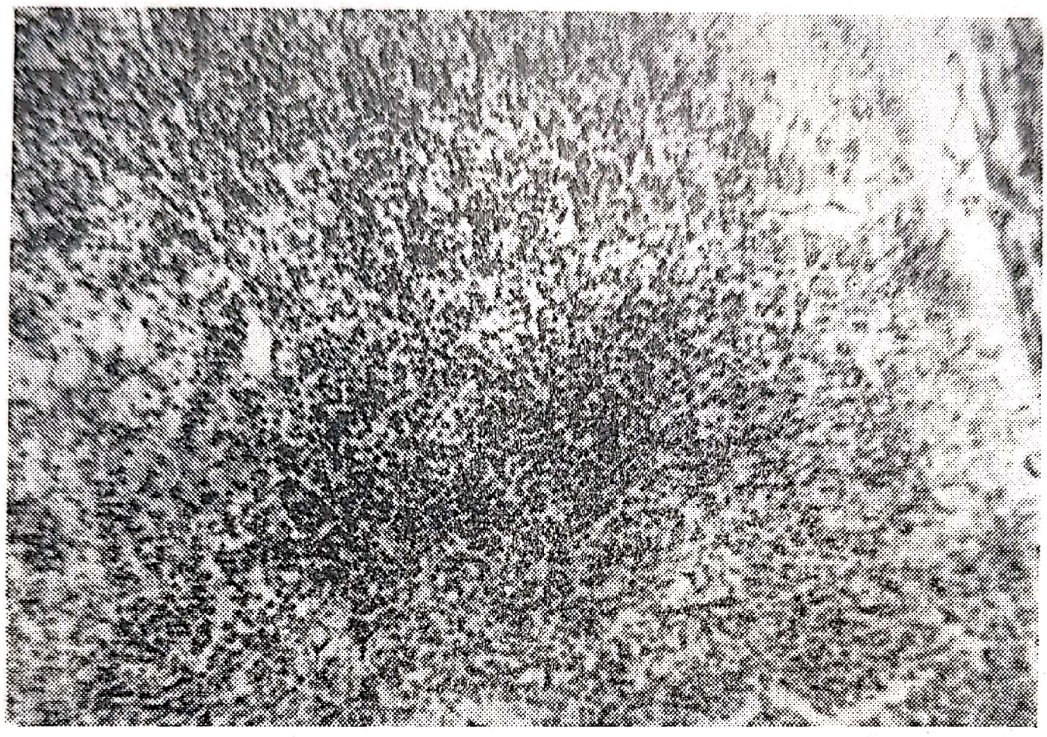


Fig. 49. — Hipertrofia zonei paracorticale. Col. H-E.

Studiind ganglionii regionali proveniţi de la 75 de paciente cu cancer de col uterin, Tsakraklides şi colab. (1973) au clasificat cazurile, în funcţie de modificarea histologică predominantă, în 4 categorii: a) predominanţă limfocitară, caracterizată prin hiperplazia limfocitelor din zona corticală paracorticală şi medulară, cu lărgirea zonei paracorticale şi prezenţa de foliculi fără centri germinali; b) predominanţa centrilor germinali, cu hipertrofia acestor formaţiuni şi numeroase plasmocite pironinofile în medulară; c) depleţie limfocitară, în ganglioni hipocelulari şi parţial fibrozaţi; d) ganglioni nestimulaţi, cu foliculi fără centri germinali, zone paracorticale şi cordoane medulare înguste (fig 50, 51, 52, 53). Primul aspect corespunde unei reacţii pe linie predominant celulară, al doilea pe linie umorală, ultimele două aspecte indică o lipsă de reacţie. De fapt, primul aspect a fost întîlnit în special la pacientele fără metastaze (96%), ca şi ultimul aspect, care traducea tumori surprinse probabil într-un stadiu precoce. Depleţia limfocitară se asocia cu cel mai ridicat număr de metastaze (33%), în timp ce cazurile cu hipertrofie a centrilor germinali prezentau o situaţie intermediară (25%). Rezultate destul de

Scanned with OKEN Scanner

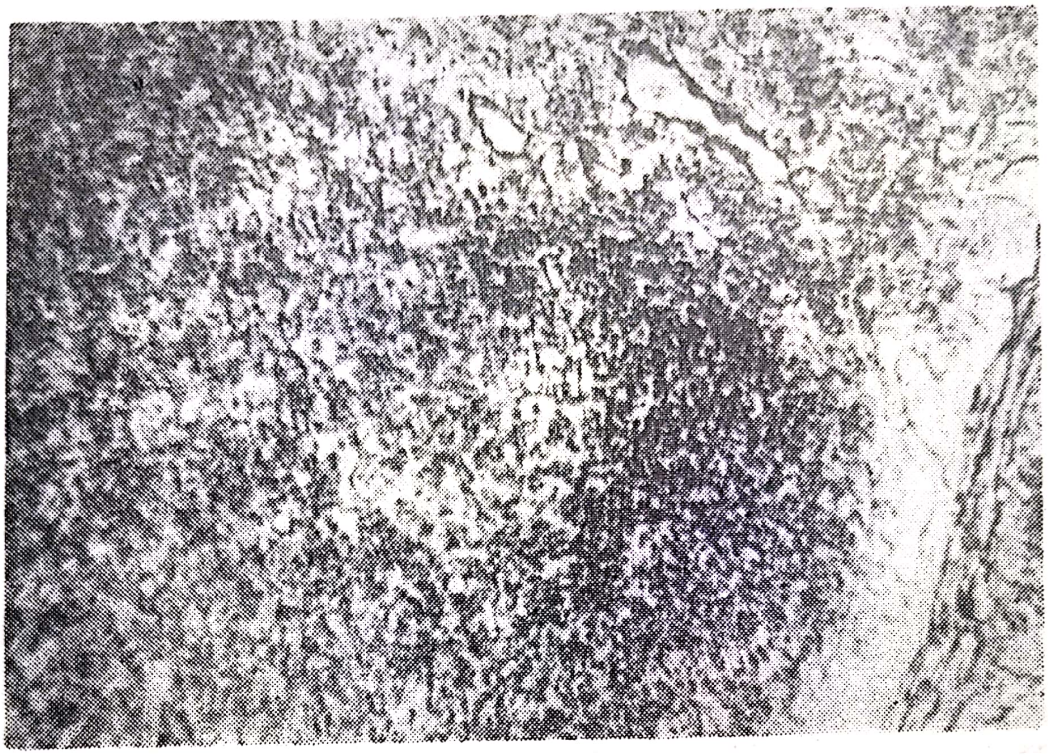


Fig. 50. — Tip de reacţie ganglionară predominant limfocitară. Col. H-E.

Fig. 51. — Reacţie ganglionară cu predominanţa centrilor germinali. Col. H-E.

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 52. — Aspect de depleţie limfocitară a ganglionului **limfatic.** Col. H-E.

Fig. 53. — Ganglion limfatic nestimulat imunologic cu prezenţa de foliculi limfatici primari. Col. H-E.

Scanned with OKEN Scanner

asemănătoare am obţinut şi noi, într-un studiu făcut pe pacienţi cu tumori laringiene (I. Suceava şi G. Simu, 1975).

Studiind împreună cu Csaba (1972) *comportarea mastocitelor* în ţesutul tumoral şi ganglionii axilari ai pacientelor cu cancer mamar, am constatat că pacientele fără metastaze prezintă, în general, un număr crescut de mastocite tinere, cu granulaţii pozitive la albastru de alcian, atît în tumoare, cît şi în ganglionii axilari. La pacientele cu metastaze, mastocitele sînt mai rare şi predomină formele mature safraninofile (fig. 54—55, *Tabelul II*). Un număr apreciabil de mastocite tinere ar coincide cu tumori surprinse într-un stadiu mai incipient şi ar avea, în corelaţie cu simptomele menţionate anterior, valoarea unui semn favorabil.

După cum se vede, examenul histologic al ganglionilor poate furniza indicaţii prognostice cu o anumită semnificaţie. Desigur aplicarea unor metode de histoenzimologie cantitativă, aşa cum preconiza Wegmann

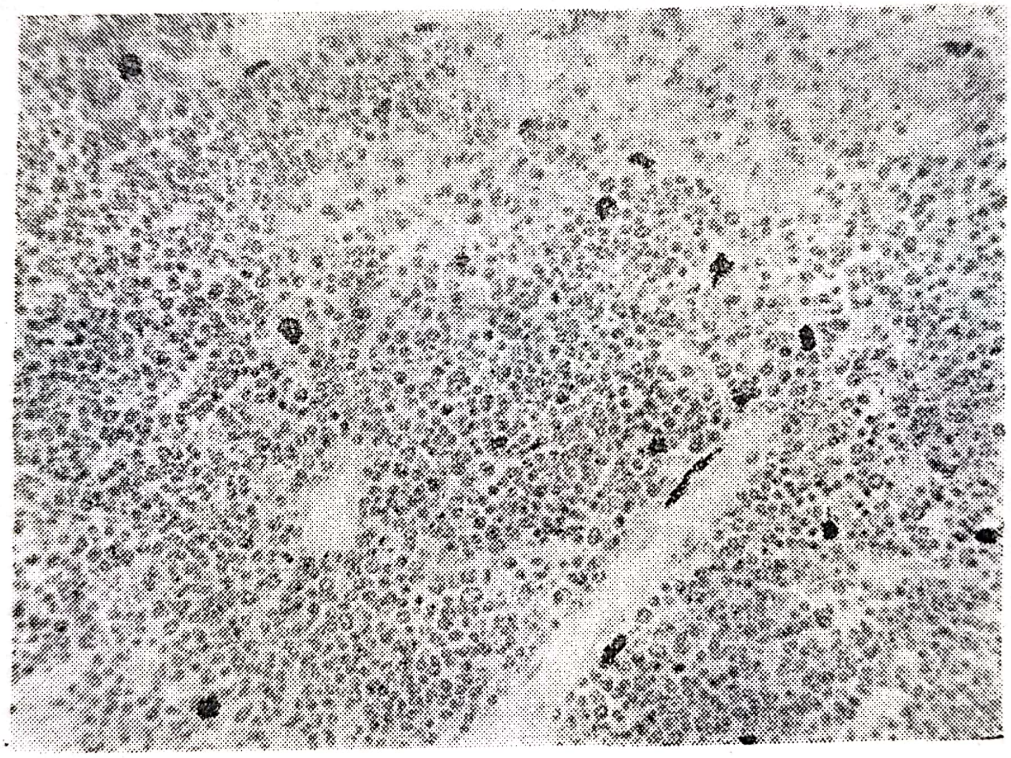


Fig. 54. — **Numeroase mastocite tinere, cu granulaţii pozitive la albastru alcian în ganglionul unei paciente fără metastaze. Col. Spicer-Balogh-Csaba cu albastru alcian-safranină.**

(1970), ar putea aduce şi mai multe indicaţii asupra eficienţei reacţiei imune care se desfăşoară în ganglioni. Elena Gabrielescu şi Moraru (1974, 1975) au demonstrat, de asemenea, importanţa studiilor histoenzimologice în aprecierea eficacităţii reacţiei imune. În funcţie de activitatea mai mare sau mai mică a proteazelor, se constată o respingere mai

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul II

Comportarea mastocitelor la paciente cu cancer mamar

Fără metastaze

Nr. crt.	Vîrsta	Tumoare		Ganglioni	
		AA	S	AA	S
1	34	++	−	+++	−
2	42	++	+	+++	+
3	42	++	+	+++	+
4	43	+	++	++++	+
5	43	+++	+	++	+
6	43	++	+++	+++	+
7	46	+	++	+++	+++
8	48	++	+++	+++	+
9	49	+	++	+++	−
10	52	++	+	+++	−
11	53	+	−	+++	++
12	54	++	++	+++	+
13	56	++	+	+++	+
14	59	+++	−	+++	−
15	63	++	+	+++	+
16	68	+	++	+	++
17	68	++	+	+++	+
18	69	++	+++	++	+
19	71	++	+++	+++	−
20	71	+++	+	+++	+

Cu metastaze

Nr. crt.	Vîrsta	Tumoare		Ganglioni	
		AA	S	AA	S
1	33	++	−	++	−
2	34	++	+	++	+
3	36	+	−	+	+
4	36	+	−	+++	−
5	39	++	+	+++	+
6	39	+	+	+	+
7	40	+	+	+	++
8	45	+	+	++	+
9	45	+	+++	++	+++
10	48	+	−	+	−
11	48	++	+	++	++
12	49	++	++	++	++
13	50	+	+	+	++
14	51	+++	−	+++	−
15	56	++	+	++	+
16	63	+	+	++	+++
17	69	+	+++	++	+++
18	64	+	++	++	++
19	73	+++	+	+++	+
20	73	+++	+	+++	+

AA – mastocite cu granulaţii predominant albastru alcian pozitive; S – mastocite cu granulaţii predominant safranin-pozitive; − = negative; + = rare; ++ = moderate; +++ = multe; ++++ = foarte multe.

Fig. 55. — Rare mastocite predominant mature, cu granulații safraninofile în ganglionul unei paciente cu metastaze. Col. Spicer-Balogh-Csaba cu albastru alcian-safranină.

rapidă sau mai întîrziată a transplantelor, după cum eficacitatea limfocitelor efectoare poate fi apreciată prin aspectul electronooptic histoenzimatic al sistemului lizozomal.

3. LIMFOCITE ȘI MACROFAGE DIN ALTE ORGANE

Hiperplazia de celule limfoide și macrofage a fost pusă în evidență și în alți ganglioni, ca și în alte organe, atît la pacienți cît și la animale cu cancer.

În *splina* pacienților cu cancer, Papilian și colab. (1967) au găsit o hiperplazie a endoteliilor sinusale, pe lîngă apariția unui număr crescut de plasmocite pironinofile. În multe cazuri, hiperplazia endoteliilor sinusale și prezența plasmocitelor apar mai degrabă ca reprezentînd stadiul final al acestor procese. Prezența splinei atrofice la astfel de pacienți sugerează fie eventualitatea evoluției cancerului cu o splină atrofică, fie faptul că atrofia organului este consecința epuizării capacității sale morfofiziologice. Recent, Stjernswärd (1976) a observat la pacientele cu cancer mamar o hipertrofie a splinei (apreciată prin autoradiografii), care regresează în urma îndepărtării chirurgicale a tumorii.

Scanned with OKEN Scanner

În cursul studiilor făcute pe animale purtătoare de tumori, în special pe pui de găină cu sarcom Rous, am putut observa o hiperplazie limforeticulară în primele săptămîni ale bolii, care făcea loc unei involuții a organului, atunci cînd tumoarea atingea anumite dimensiuni.

În *ficatul* celor mai mulți pacienți sau animale cu cancer se observă, de asemenea, o apreciabilă hiperplazie și hipertrofie a celulelor Kupffer, uneori apariția de infiltrate cu celule mononucleare în spațiile porte. Aceste modificări sînt pronunțate în special la pacienții cu tumori ale organelor al căror sînge venos este colectat de vena portă. În funcție de stadiul bolii canceroase, au fost observate modificări ale *măduvei hematogene* (Popa, 1966), constînd în hiperplazii reticulare, în faze mai timpurii ale bolii, care făceau loc unei hipoplazii medulare, în fazele avansate ale bolii.

D. TIMUSUL ÎN ORGANISME CU CANCER

În 1926, Hammar a atras atenția că la pacienții cu tumori maligne, atrofia timusului este mai exprimată decît la persoanele de aceeași vîrstă, decedate accidental. Fenomenul este în special evident la tineri, la care atrofia organului apare mult mai clar. Rărirea pînă la dispariție a limfocitelor din timus a fost pusă de acest autor pe seama migrării lor în circulație. Studiind fenomenul pe iepuri cu tumori induse cu gudron de huilă, A. Babeș (1929), menționînd modificările degenerative mergînd pînă la fragmentări nucleare și liză celulară întîlnite la nivelul timocitelor, pune atrofia timusului pe seama acțiunii toxice a substanței cancerigene și sugerează că ar putea avea importanță în apariția tumorii maligne.

Ulterior, mai mulți cercetători au constatat apreciabila involuție a timusului la pacienți (Souadjian și colab., 1969; Ageev, 1970) sau animale cu tumori maligne (Larionow, 1932; Fukuoka și Nakahara, 1952; Alesin și Ratikovskaia, 1954; Csaba și colab., 1960; Siegler și Koprowska, 1962; Ertl, 1968; Klug, 1968). Această involuție se traduce, în general, prin rărirea, pînă la dispariție a limfocitelor și transformarea organului atrofic în țesut fibroadipos. În ceea ce privește explicațiile oferite, sînt interesante cele ale lui Larionow (1932) asupra unui raport direct între viteza de proliferare a tumorii și intensitatea fenomenului de involuție, ca și cele ale lui Csaba și colab. (1960) despre producerea involuției în organisme cu proliferări celulare accentuate (tumori maligne, procese inflamatorii cronice, sarcină). Siegler și Koprowska (1962) descriind unele

Scanned with OKEN Scanner

aspecte cortizonice în organismul şoarecilor cu tumori ascitice, sugerează şi ei posibilitatea migrării limfocitelor din timusul contractat şi atrofic.

Problema a devenit deosebit de interesantă mai ales după ce Parhon, Şt.—M. Milcu şi Isabela Potop (1955) au demonstrat influenţa unor extrase timice asupra creşterii tumorilor maligne şi după ce observaţiile clinice ale lui Good (1959) sau observaţiile experimentale ale lui Miller (1961) au evidenţiat rolul esenţial al timusului în geneza şi maturaţia imunităţii. Aceasta cu atît mai mult, cu cît cam în acelaşi timp s-a recunoscut importanţa factorilor imuni în apariţia şi creşterea tumorilor maligne.

Aceste consideraţii ne-au determinat să studiem mai atent comportarea timusului la animale cu tumori transplantate sau induse prin substanţe chimice sau virusuri, căutînd să surprindem unele mecanisme şi să înţelegem semnificaţia involuţiei. În aceste lucrări am plecat de la concluziile lui Selye (1936) asupra rolului determinant al hormonilor glicocorticoizi în producerea involuţiei timusului în stările de *stress*, ca şi ale lui Pora şi Toma (1964) asupra importanţei biologice a fenomenului, considerîndu-se timusul ca organul de joncţiune dintre homeostazia neuroendocrină şi imunologică a organismului. Lucrările au fost executate pe şobolani Wistar cu tumori transplantate (carcinosarcom Walker 256, carcinom ascitic OYa) sau induse chimic (hepatom indus cu galben de unt şi aflatoxină, sarcom indus cu benzantracen), şoareci A_2G cu carcinom ascitic Ehrlich şi pui de găină Leghorn (Stark-Ross 5×7) cu sarcom Rous (tulpina Bryan).

Rezultatele obţinute au permis concluzia că involuţia timusului este un fenomen constant, progresiv şi ireversibil în organismele purtătoare de tumori maligne. Studiul comparativ al unor loturi de şobolani Wistar cu aceleaşi caracteristici biologice (masculi de 100—120 g) purtători a diferite variante de tumori transplantate sau induse chimic evidenţiază cîteva aspecte structurale caracteristice care sugerează unele mecanisme de producere a involuţiei timice şi anumite semnificaţii (Simu, Toma, Draga Nestor şi Maria-Sena Roşculeţ, 1968; Chiricuţă, Simu şi Toma, 1970) (Tabelul III).

Involuţia este cu atît mai rapidă cu cît tumoarea creşte mai repede, devenind un indice al malignităţii procesului tumoral. În cazul animalelor transplantate cu tumoare Walker, la care intensitatea proliferării tumorale a depins de calea de transplantare, subcutanată sau intramusculară, viteza de involuţie a timusului a variat cu această cale, fiind mai rapidă în varianta intramusculară. Ea este foarte rapidă în cazul transplantării intraperitoneale. Scăderea progresivă în volum şi greutate a

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul III

Involuţia timusului la şobolani cu tumori maligne

(valori medii în mg)

	Loturi experimentale	zile					
		7	14	28	60	90	120
1	Martori	150	150	150	170	176	180
2	Martori suprarenalectomizaţi bilateral	234	320	–	–	–	–
3	Carcinoma ascitic OYa intraperitoneal	113	89	–	–	–	–
4	Carcinom OYa intraperitoneal suprarenalectomie	135	–	–	–	–	–
5	Carcinom ascitic OYa intramuscular	144	116	74	–	–	–
6	Carcinosarcom Walker subcutanat	154	120	89	65	–	–
7	C. Walker subcutanat suprarenalectomie	195	312	–	–	–	–
8	Sarcom indus cu benzpiren	150	147	142	130	120	98
9	Hapatom indus cu galben de unt	152	142	140	120	100	85
10	Hepatom indus cu aflatoxină B_1	134	120	105	100	96	88

organului se traduce microscopic prin dispariţia progresivă a limfocitelor, în special corticale, ducînd la ştergerea arhitecturii cortico-medulare a organului (fig. 56, 57, 58). Nu se întîlnesc fenomene evidente de limfoliză observate în cursul involuţiilor timice din stările de şoc (fig. 59), ci numai fenomene de distrofie celulară cu picnoză (fig. 60). În unele cazuri, se constată prezenţa unui mare număr de limfocite în vasele pericapsulare (fig. 61). Concomitent, corpusculii Hassall, de obicei puţin evidenţi la şobolan, devin mai mari, uneori chistici, conţinînd un material amorf PAS-pozitiv. Celulele reticulare revin uneori la un caracter franc epitelial, delimitînd cavităţi rotunde, uneori chistice (fig. 62). Mastocitele capsulare şi subcapsulare apar considerabil înmulţite (fig. 63, 64). Pînă la urmă, organul atrofiat capătă o structură fibroadipoasă.

Scanned with OKEN Scanner

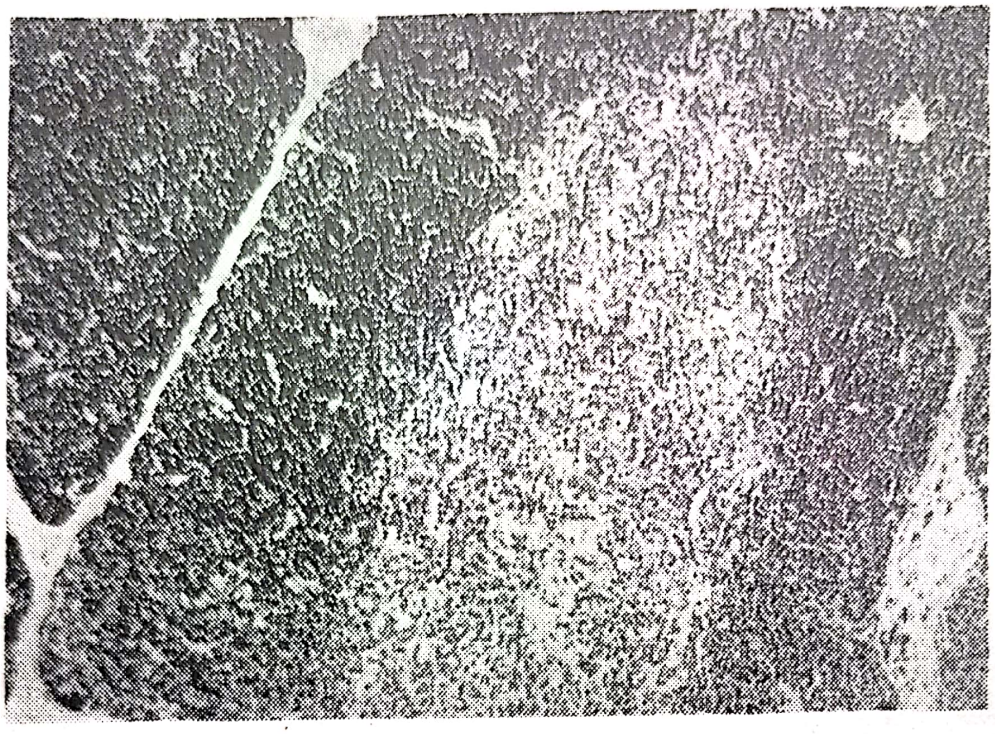


Fig. 56. — Timus de șobolan normal. Col. H-E.

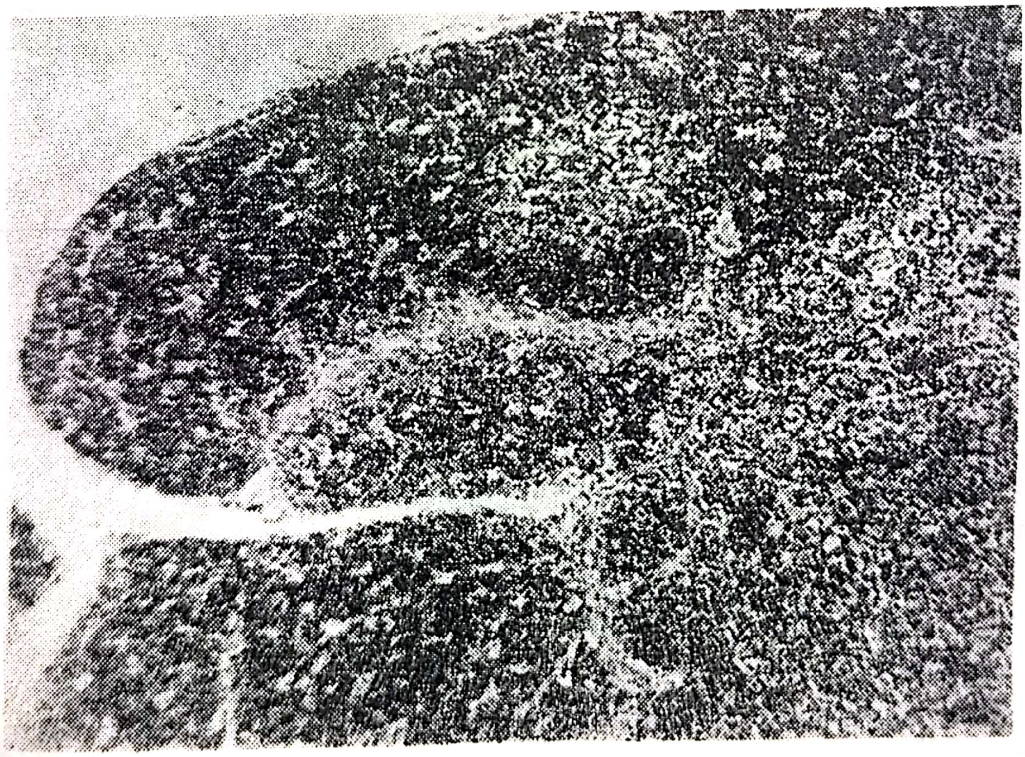


Fig. 57. — Faza precoce a involuției timusului la șobolan cu tumoare. Începutul depleției limfoide în corticală cu apariția aspectului de cer înstelat. Col. H-E.

Scanned with OKEN Scanner

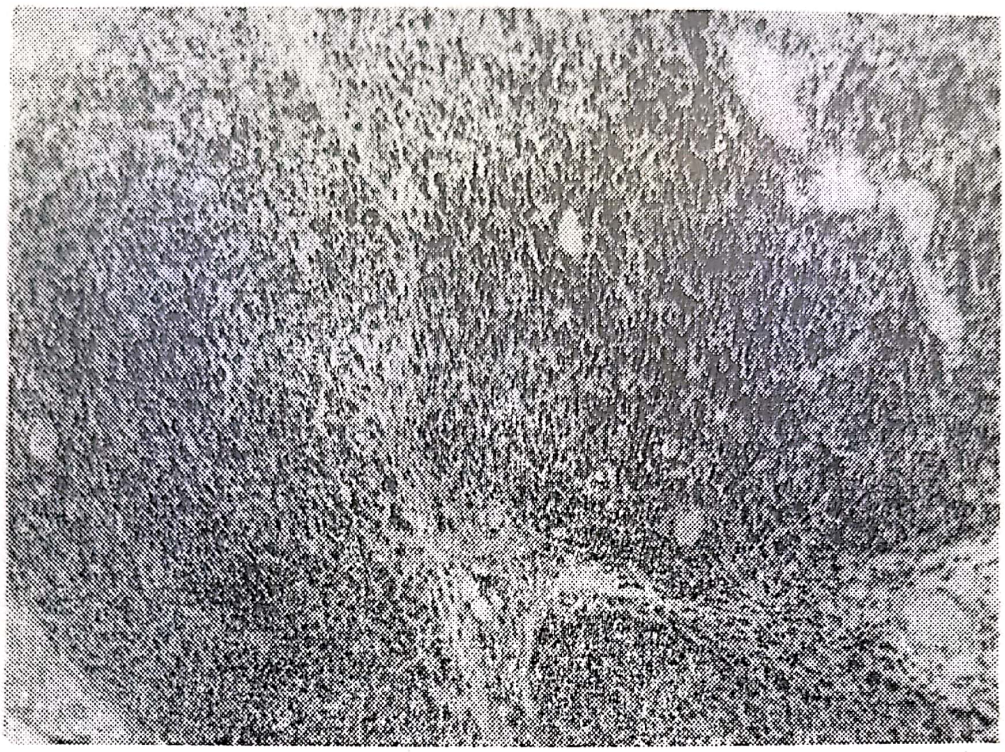


Fig. 58. — Fază avansată a involuției timusului la șobolan cu tumoare. Col. H-E.

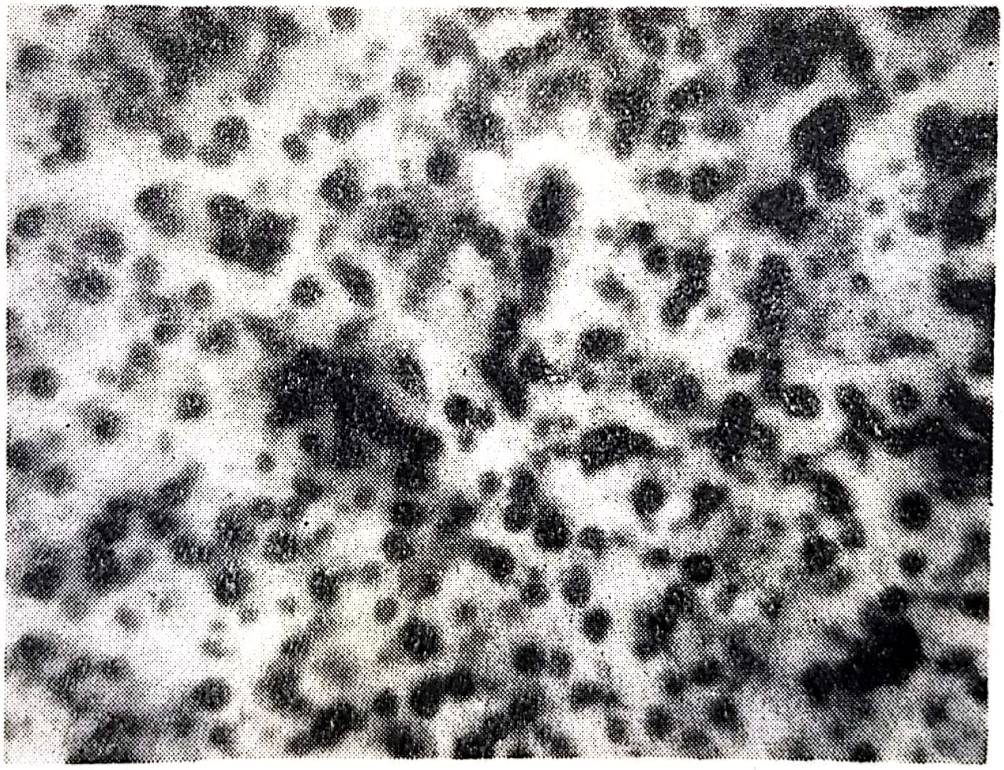


Fig. 59. — Aspect de limfoliză exprimată în timusul unui șobolan, în cursul șocului prin arsură. Col. Brachet-Kurnick cu verde metil-pironină.

Scanned with OKEN Scanner

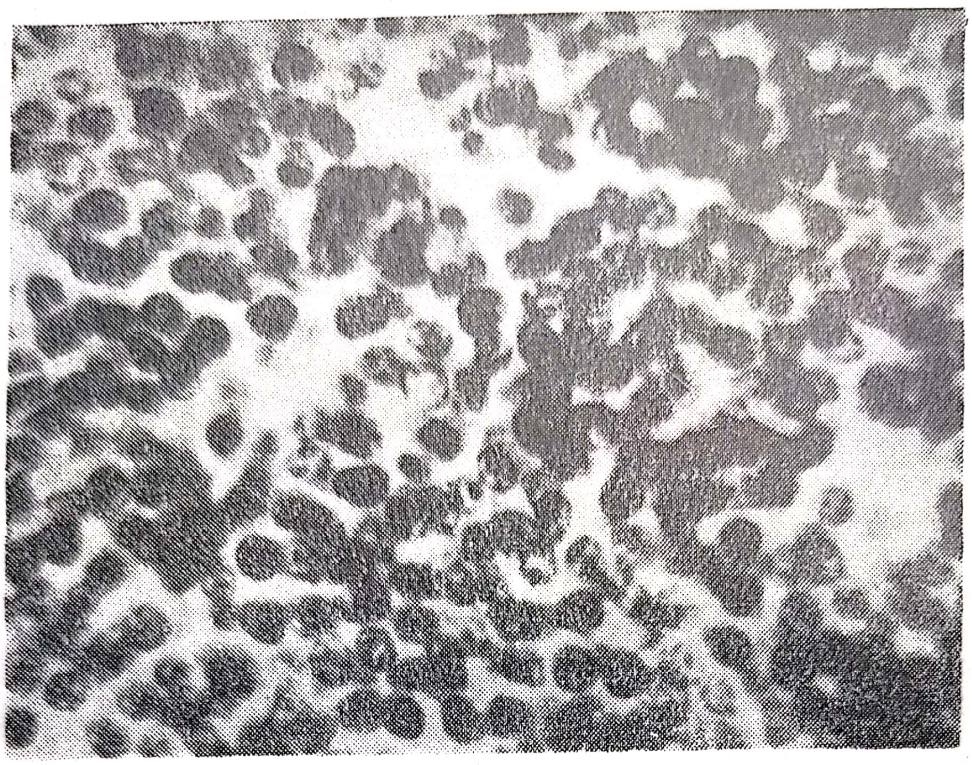


Fig. 60. — Fenomene de picnoză a celulelor limfoide în timusul unui șobolan cu tumoare. Col. H-E.

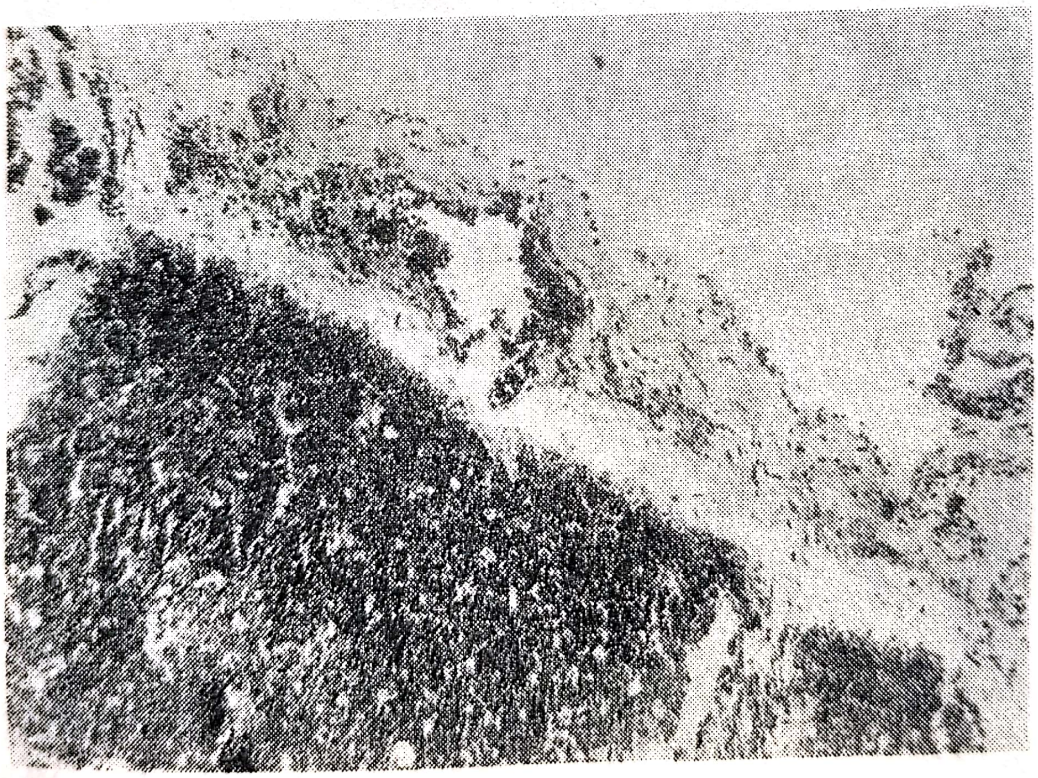


Fig. 61. — Numeroase limfocite în vasele pericapsulare în timusul pe cale de involuție al unui șobolan cu tumoare. Col. H-E.

Scanned with OKEN Scanner

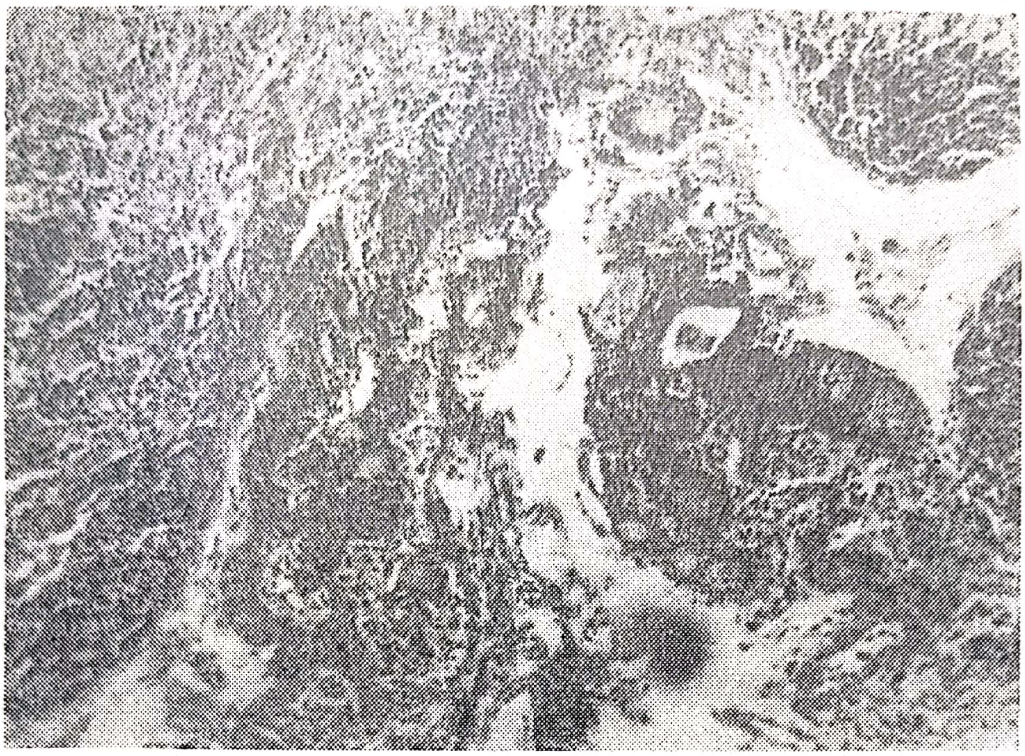


Fig. 62. — Apariţia de cavităţi pseudoglandulare în timusul involuat al unui şobolan cu tumoare. Col. H-E.

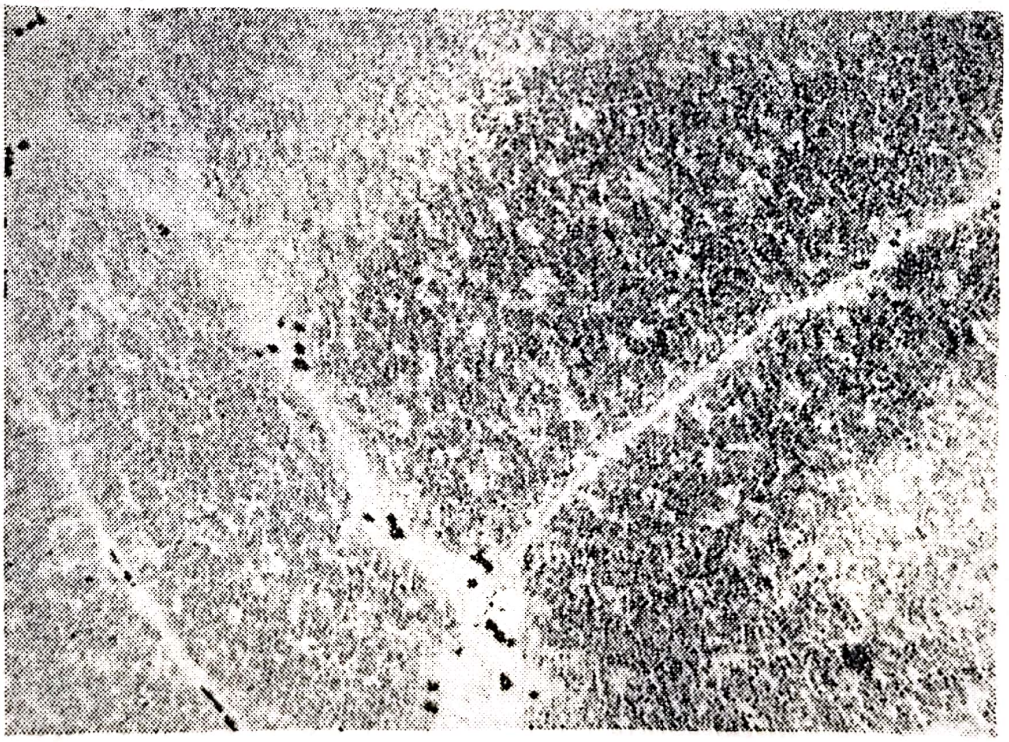


Fig. 63. — Aspectul mastocitelor în timusul unui şobolan normal. Col. cu albastru de toluidină.

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 64. — Creşterea apreciabilă a numărului mastocitelor în timusul involuat al unui şobolan cu tumoare. Col. cu albastru de toluidină.

Involuţia timusului pare indusă în primul rînd de o secreţie crescută de hormoni suprarenalieni (glucocorticoizi), întrucît suprarenalectomia bilaterală o moderează semnificativ, după cum se observă la şobolanii purtători de tumoare Walker sau OYa suprarenalectomizaţi bilateral. La şobolanii transplantaţi cu tumoare Walker se constată, după două săptămîni de la transplantare, creşterea semnificativă a excreţiei urinare de 17-hidroxicorticoizi, care persistă timp de aproximativ o lună (Frenkel, Floriana Popa şi Simu, 1976).

Întrucît o involuţie mai moderată se obţine şi la animalele suprarenalectomizate bilateral, mai ales în cazul tumorilor cu creştere rapidă, ea a fost pusă pe seama acţiunii unor metaboliţi tumorali. De fapt, Fukuoka şi Nakahara (1952) au obţinut constant involuţia timusului la animale normale injectate cu polipeptidul izolat de ei din tumorile maligne sub numele de toxohormon, fenomen obţinut şi de noi prin injectarea unor doze mici şi repetate de toxohormon (Chiricuţă, Gross şi Simu, 1968).

În cazul tumorilor induse chimic, acţiunea toxică directă a substanţei cancerigene asupra limfocitelor, presupusă deja de Aurel Babeş (1929), trebuie de asemenea luată în considerare. În acest sens, plecînd de la observaţiile asupra modificărilor produse în timusul de şobolan încă din primele ore după administrarea intraperitoneală a dozei L_{50} de aflato-

xină B_1 (Wegmann şi Simu, 1970), am studiat împreună cu Silvia Dancea şi Preda (1975) expresia electronooptică a acestui fenomen. Încă din primele ore după administrarea micotoxinei apar modificări evidente în comparaţie cu martorii. La aceştia, în corticală predomină timocitele de formă rotundă sau uşor poligonală, în contact intim prin membranele lor periplasmatice; nucleoplasma este formată din heterocromatină abundentă, dispusă în grămezi mari de-a lungul membranei perinucleare iar citoplasma redusă conţine ribosomi liberi, cîteva mitocondrii şi un aparat Golgi mic în apropierea nucleului (fig. 65). Acţiunea aflatoxinei este evidentă, cum era de aşteptat, la nivelul nucleului, care, la unele timocite prezintă, deja la 4 ore de la administrare, o segregare a componentei fibrilare de cea granulară a nucleolului şi dispunerea lor în zone separate cea fibrilară, mai densă, se situează la periferia componentei granulare (fig. 66). În nuclei creşte de asemenea cantitatea de cromatină condensată (fig. 67) şi se produce uneori o separare netă în zone distincte a heterocromatinei de eucromatină (fig. 68). Numărul mitozelor este şi el scăzut în comparaţie cu martorii. Aceste modificări se precizează după 24 de ore, numeroase timocite prezentînd nuclei în care heterocromatina este net separată de eucromatină şi ocupă cea mai mare parte din suprafaţa de secţiune a nucleului (fig. 69). Leziunile descrise depăşesc mult în amploare pe cele descrise de Klug (1968) în timus, în primele zile după transplantarea unei tumori maligne.

Csaba şi colab. (1960, 1972), bazaţi pe rezultate experimentale care demonstrau că timusul este organul principal de formare a mastocitelor din precursori celulari sub acţiunea hormonilor glicocortizoizi, consideră că cel puţin parţial diminuarea numărului celulelor limfoide este urmarea transformării lor în mastocite. Această părere, împărtăşită şi de Ginsburg şi Sachs (1963) sau Burnet (1966), poate explica parţial diminuarea numărului celulelor limfoide din timus.

În sfîrşit, este foarte atractivă ipoteza lui Siegler şi Koprowska (1962) că prezenţa tumorii maligne determină migrarea limfocitelor timice spre organele limfoide periferice, unde vor lua parte la reacţia imună antitumorală, ipoteză care ulterior a fost verificată de cercetările experimentale. Astfel, Rodica Duţu şi colab. (1975), ca şi Lucia Dumitrescu şi colab. (1976), au arătat că stimularea specifică (cu extract glicoproteic tumoral) sau nespecifică (albumină serică bovină, PPD, tiamindifosfat), la şobolani cu sarcom Jensen, determină apariţia unor aspecte structurale sugerînd, mai ales în cazul stimulanţilor nespecifici, proliferarea, diferenţierea şi migrarea celulelor limfoide din timus spre organele limfoide periferice: îngustarea corticalei, cu migrarea timocitelor în medulară şi apariţia lor în jurul şi în interiorul venelor medulare (calea uzuală de migrare spre organele limfoide periferice). În primele zile, celulele marcate apar în special în zonele timus-dependente din splină. Acest fenomen are

Scanned with OKEN Scanner

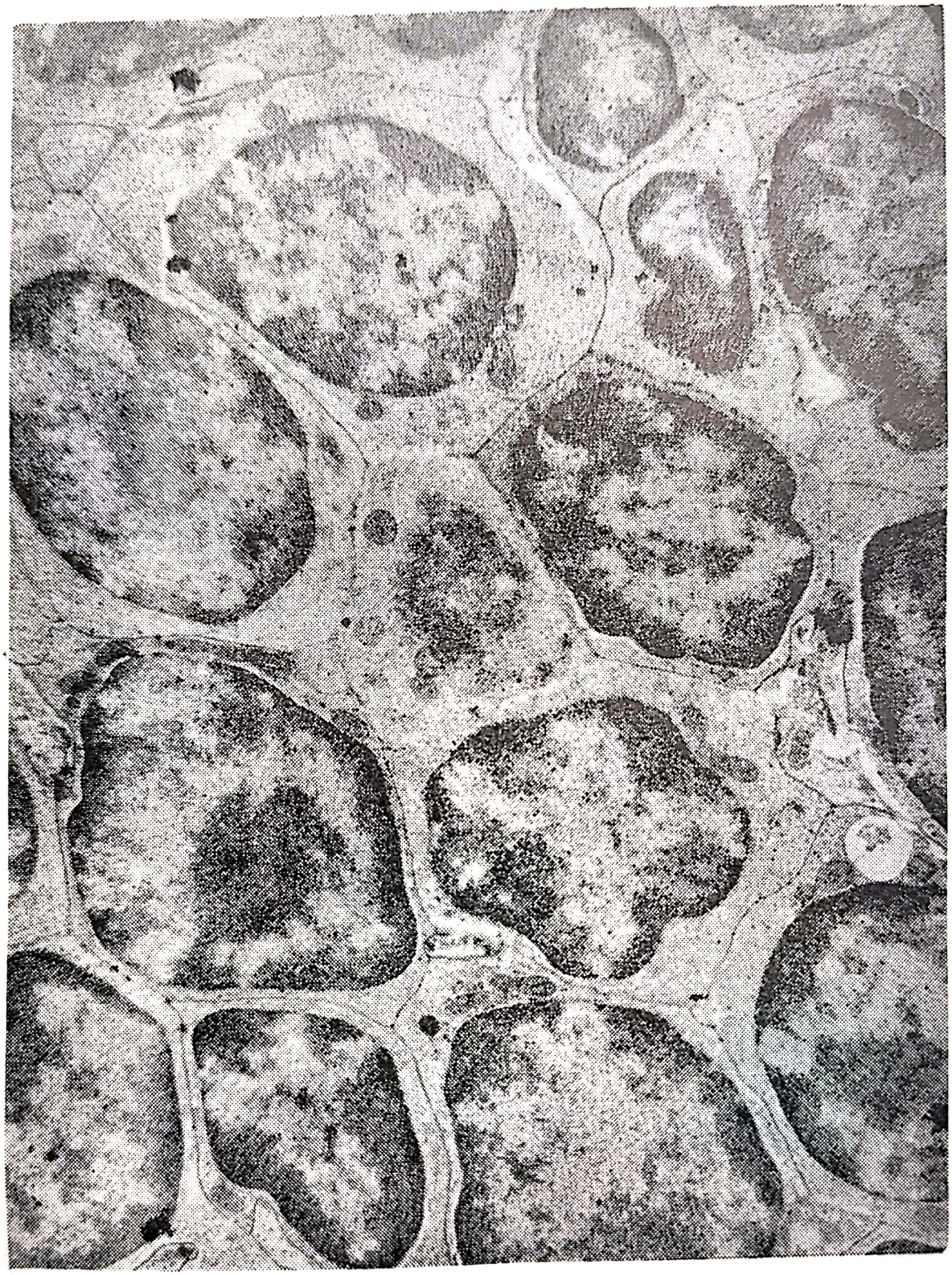


Fig. 65. — Aspectul electronooptic al corticalei timusului de șobolan normal.

Scanned with OKEN Scanner

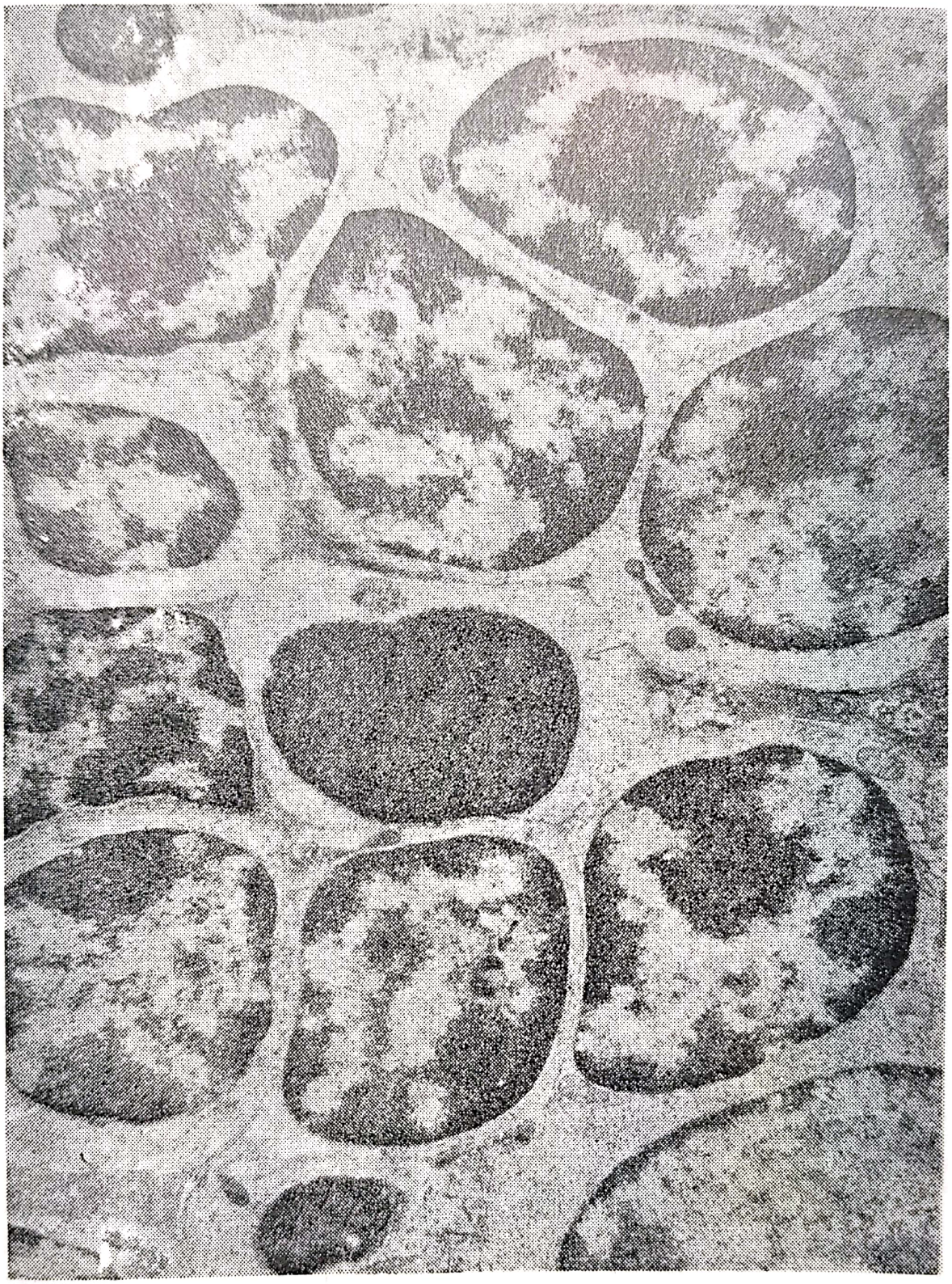


Fig. 66. — Modificări timpurii induse de aflatoxină în timusul de șobolan. Săgeata indică segregarea componentei granulare și fibrilare a nucleolului, apărută în celulele limfoide din corticală, la 4 ore după administrare. Imagine electronooptică.

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 67. — Aceeași imagine ca în fig. 66: cu un obiectiv mai puternic se observă dispunerea periferică a componentei fibrilare mai dense a nucleolului celulelor limfoide din timusul de șobolan, la 4 ore după administrarea aflatoxinei. Imagine electronooptică.

Scanned with OKEN Scanner

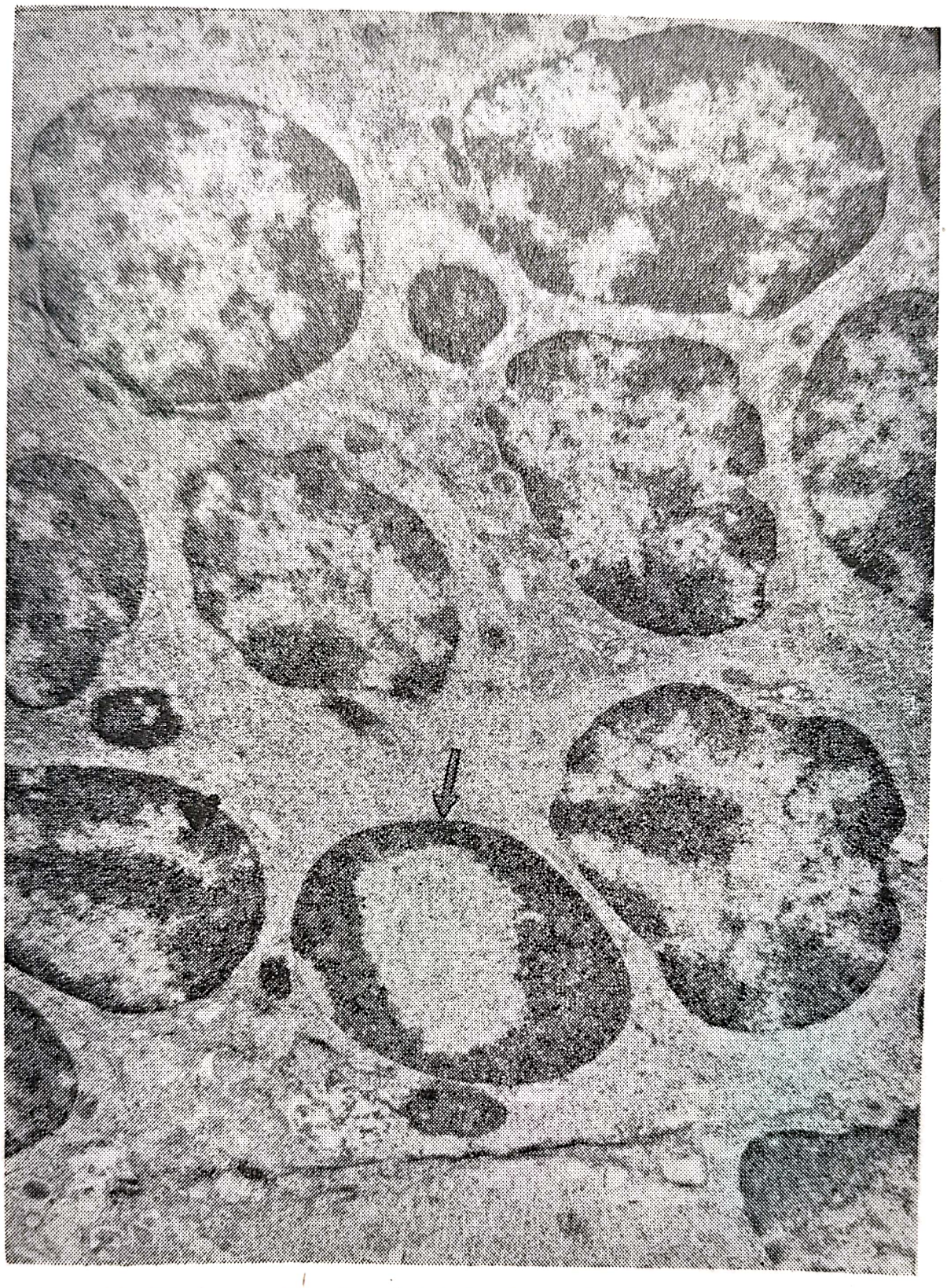


Fig. 68. — Modificări produse în celulele limfoide ale timusului la 24 de ore după administrarea aflatoxinei: separarea heterocromatinei, care ocupă cea mai mare parte a nucleului, de eucromatină. Imagine electronooptică.

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 69. — Aspect electronooptic al timusului de șobolan la 24 de ore după administrarea aflatoxinei.

Scanned with OKEN Scanner

ca rezultat, în conformitate cu observaţiile lui Costăchel şi colab. (1976), o evidentă creştere a rezistenţei organismului faţă de tumoarea malignă, ducînd la eliminarea în proporţie de 30—50% a transplantelor tumorale la şoareci sau şobolani.

Merită subliniat faptul că involuţia progresivă şi ireversibilă a timusului la pui de găină cu sarcom Rous este însoţită de involuţia concomitentă, dar mai moderată a bursei Fabricius (Doina Ionescu şi Simu 1972) (Tabelul IV, fig. 70, 71, 72, 73, 74). De asemenea involuţia timusului poate fi întreruptă prin exereza chirurgicală a tumorii înainte de constituirea metastazelor, obţinîndu-se regenerarea completă sau aproape completă a organului (Toma şi Simu, 1972) (tabelul V, fig. 73).

Tabelul IV

Timusul şi bursa Fabricius la pui de găină cu sarcom Rous

Greutate medie relativă (%)

Organ	Zile după inoculare							
	7		14		21		28	
	M	T	M	T	M	T	M	T
Timus	0,248	0,167	0,309	0,104	0,289	0,079	0,182	0,095
		0,054	0,030	0,030	0,107	0,042	0,017	0,044
Bursa Fabricius	0,341	0,392	0,291	0,186	0,313	0,195	0,316	0,200
		0,089	0,058	0,081	0,098	0,127	0,066	0,104

M = martori, T = animale cu tumoare

Tabelul V

Greutatea timusului (mg) la şobolani cu tumoarea Walker indepărtată chirurgical la o lună după transplantare

În momentul transplantării (10)	1 lună după transplantare (10)	5 luni după îndepărtarea tumorii (12)	Martori de aceeaşi vîrstă (10)
290	130	176	198

În paranteze, numărul animalelor

Caracterul ireversibil al involuţiei timice în organisme cu tumori maligne contrastează cu involuţiile trecătoare ale timusului observate în condiţii legate de *stress*, cum sînt stările de şoc (Fazzari, 1960; Chiricuţă şi Simu, 1966), în reacţii de eliminare a transplantelor (Kossowska-Paul şi colab., 1967), boli infecţioase benigne sau vaccinări (Landy şi colab., 1965), cînd timusul se regenerează după o perioadă de 2—3 săptămîni.

Scanned with OKEN Scanner

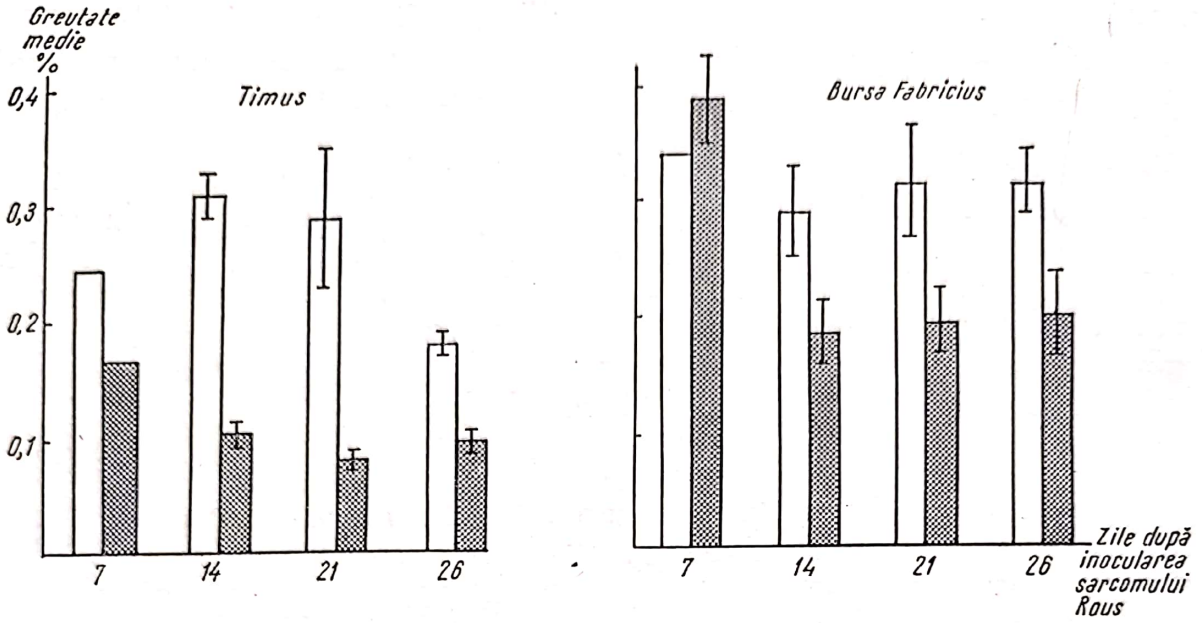


Fig. 70. — Involuția timusului și a bursei Fabricius la pui de găină cu sarcom Rous. Coloanele albe indică animale cu tumori, coloanele haşurate, animale martore.

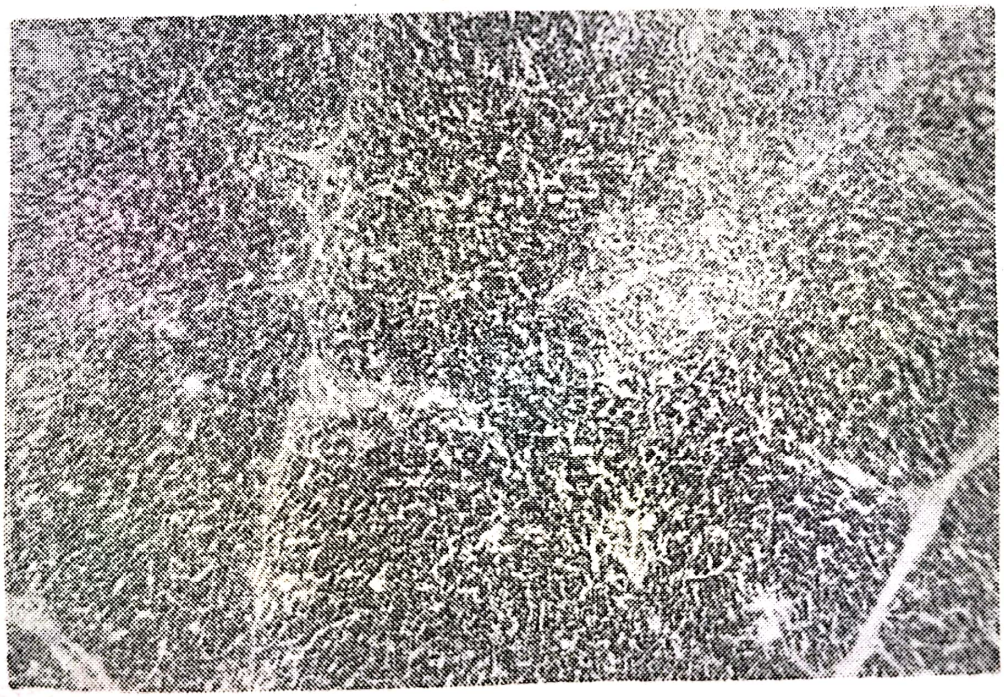


Fig. 71. — Aspectul microscopic al timusului la pui de găină normal. Col. H-E.

Scanned with OKEN Scanner

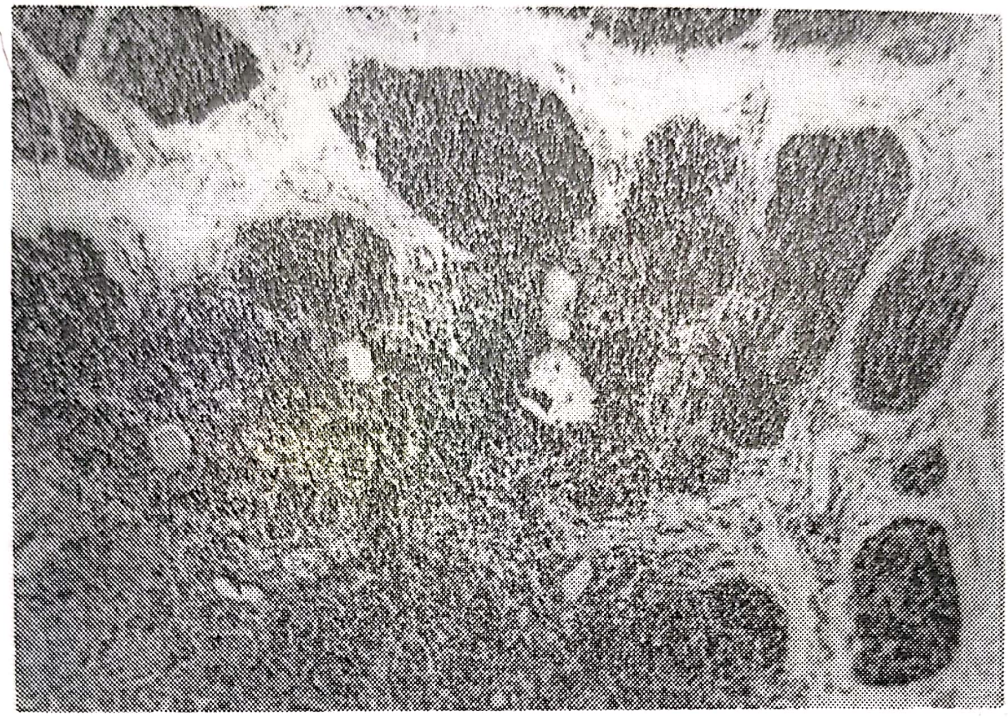


Fig. 72. — Timus involuat la pui de găină cu sarcom Rous. Col. H-E.

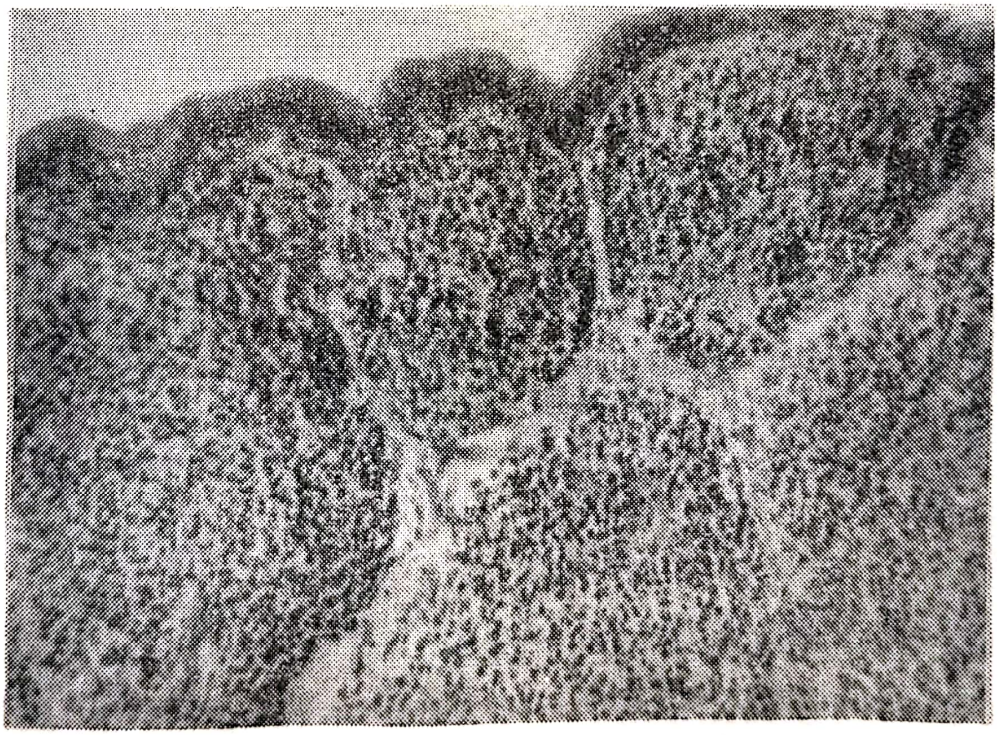


Fig. 73. — Bursă Fabricius la pui de găină normal. Col. H-E.

Scanned with OKEN Scanner

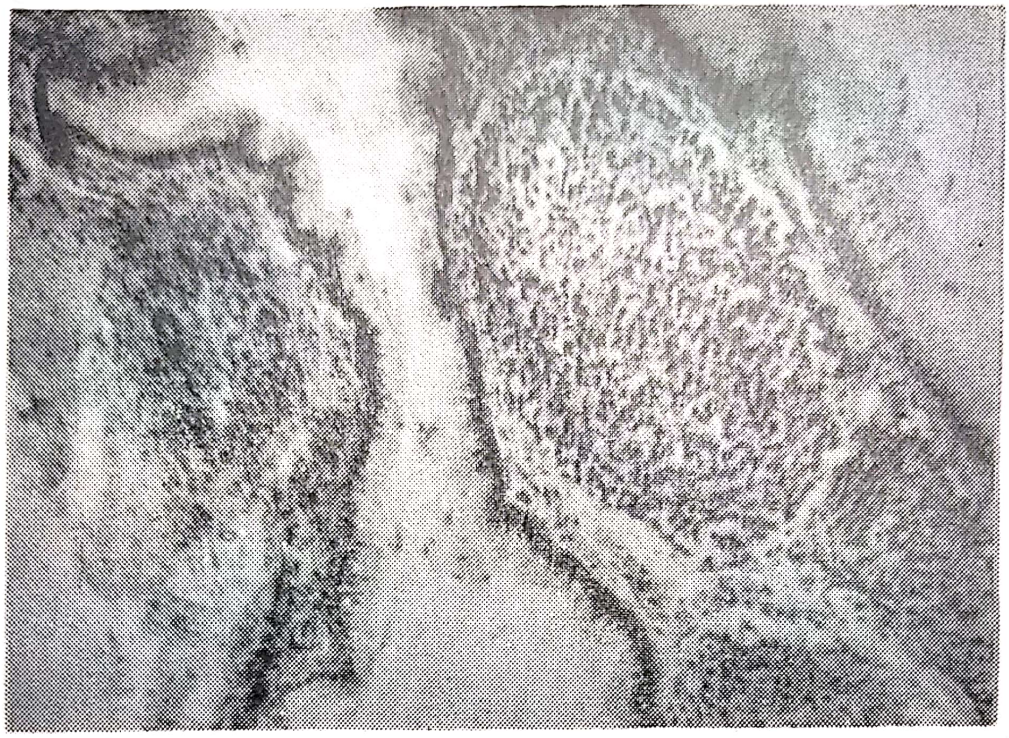


Fig. 74. — Atrofia bursei Fabricius la pui de găină cu sarcom Rous. Col. H-E.

Fig. 75. — Timus cu corticala limfoidă refăcută la șobolan la care tumoarea Walker a fost îndepărtată înainte de apariția metastazelor; persistă corpusculi chistici. Col. Hotchkiss-Mac Manus PAS.

Scanned with OKEN Scanner

Ea aminteşte însă involuţiile definitive întîlnite în cursul unor procese patologice caracterizate prin reacţii imune ineficace, cum ar fi reacţia grefă-contra-receptor (Good, 1967) sau diferite infecţii şi infestaţii cu evoluţie cronică sau fatală (Csaba şi colab., 1960; Maria Bedivan, 1971; Huldt şi colab., 1973). În acest sens, capacitatea sau incapacitatea de regenerare a timusului ar fi indicele eficacităţii sau lipsei de eficacitate a reacţiei imune în cursul căreia s-a produs.

Pentru a demonstra acest aspect, am studiat împreună cu Maria-Sena Crivii şi Draga Nestor (1976) comportarea timusului la şoareci A_2G transplantaţi cu carcinom ascitic Ehrlich, în comparaţie cu animale iden-

Tabelul VI

Comportarea timusului la şoareci transplantaţi cu homogrefă de piele şi carcinom ascitic Ehrlich

Lot	Greutatea medie a timusului în mg		
	7 zile	14 zile	28 zile
Martori	64	55	50
Homogrefă de piele	48	49	63
Carcinom Ehrlich	53	35	25

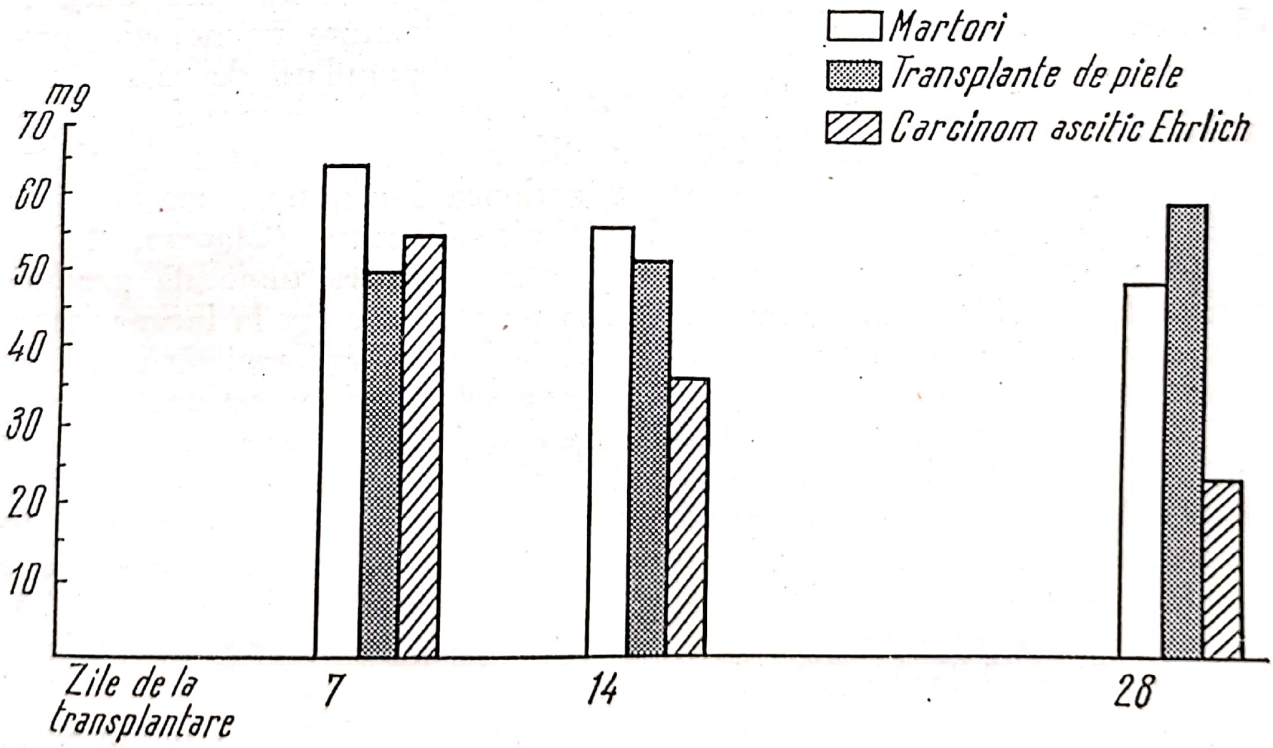


Fig. 76. — **Comportarea timusului la şoareci transplantaţi cu grefe de piele şi carcinom ascitic Ehrlich.**

tice, transplantate homotopic cu piele provenită de la șoareci CBA. Am considerat cele două situații ca fiind condițiile extreme ale unei reacții imune, ineficacitatea totală a reacției antitumorale contrastînd ascuțit cu eficacitatea absolută a reacției antitransplant. Într-adevăr, după 14 zile de involuție progresivă, concomitent la ambele loturi, timusul animalelor în plină acțiune de respingere a transplantelor s-a regenerat complet în următoarele două săptămîni, spre deosebire de involuția progresivă a timusului animalelor purtătoare de tumori, care evoluau spre sfîrșit letal. (Tabelul IV, fig. 76).

Rolul timusului în geneza și maturația imunității în perioada perinatală este binecunoscut. Există de asemenea o serie de observații (Miller, 1962; Auerbach, 1963; Landy și colab., 1965; Csaba și colab., 1966) care atestă că timusul este necesar și în organismul adult pentru declanșarea unei reacții imune normale. După cum afirmă Miller și Mitchell (1969), „timusul continuă, în organismul adult, să influențeze dezvoltarea unei populații adecvate de limfocite mici cu viață lungă, imunologic competente, a cărei dispariție ar duce la grave defecte ale capacității de reacție imună".

Este dificil însă de explicat semnificația funcțională a involuției trecătoare a timusului în cursul reacțiilor imune, fenomen aparent neeconomic, dar totuși necesar mai ales pentru producerea unei reacții imune față de noi antigene (Craddock, 1972). De fapt, Blomgren (1972) a reușit să demonstreze experimental că administrarea de cortizon, care duce la distrugerea majorității celulelor limfoide, încă imature imunologic, produce exaltarea capacității de reacție a micii subpopulații de celule imunologic competente din timus. Există și alte observații asupra faptului că doze mici de corticosteroizi induc proliferarea și maturarea diferitelor categorii de limfocite, în contrast cu acțiunea limfolitică menționată a acestor hormoni asupra limfocitelor timice imature (Claman, 1972). În acest sens *stress*-ul prelungit indus de proliferarea tumorală produce probabil o limfoliză exagerată, ducînd la un moment dat la incapacitatea timusului de a furniza populația de celule T necesară realizării reacției imune antitumorale. Efectul toxic al unor substanțe cu acțiune cancerigenă concomitentă poate contribui de asemenea la realizarea acestui efect. În orice caz, atrofia timusului și a bursei Fabricius este urmată la pui de găină cu sarcom Rous de atrofia splinei, precedată de o trecătoare hipertrofie. La șoareci C3H/Hl cu tumori mamare, involuția timusului este asociată cu atrofia zonelor timus-dependente din splină și ganglionii limfatici și cu scăderea progresivă a eficienței reacțiilor imune, în special a celor mediate celular (Rowland și colab., 1973).

Luînd în considerare ultimele aspecte amintite, se poate presupune că involuția timusului și alterările morfofuncționale consecutive ale celorlalte organe limfoide sînt cel puțin parțial responsabile de depresia imunolo-

Scanned with OKEN Scanner

gică ce apare într-un anumit moment al bolii canceroase şi influenţează evoluţia sa malignă. Aceasta cu atît mai mult, cu cît atrofia timusului lipseşte organismul de o serie de factori umorali produşi de componenta sa reticuloepitelială şi avînd rol important în stimularea multiplicării şi diferenţierii imunocitelor.

Din punct de vedere practic, se ridică problema posibilităţii refacerii imunodeficienţei secundare atrofiei timusului prin transplante de timus izogenic sau administrarea de extracte timice. Executarea unor transplante de timus fetal la 8 pacienţi cu limfom Hodgkin a fost urmată de evidente rezultate în sensul refacerii capacităţii de reacţie imună (Chiricuţă şi Crişan, 1974). Rezultate experimentale încurajatoare au fost obţinute şi cu ajutorul timosterinei, extractul timic preparat de Şt.-M. Milcu şi Isabela Potop (1973).

O problemă interesantă legată de imunitatea antitumorală şi de rolul timusului în realizarea eficacităţii acestei imunităţi este reprezentată de biologia şi patologia organismelor lipsite constituţional de timus, cum sînt tulpinile de şoareci „nuzi" (*nude mice*). Lipsa congenitală a timusului este determinată la aceste animale de o genă recesivă. Pe lîngă absenţa macroscopică a timusului, aceşti şoareci prezintă deficienţe în creşterea părului, pielea glabră şi zbîrcită conferindu-le un aspect mizer. În cursul dezvoltării intrauterine, rudimentul epitelial de timus apare impropriu colonizării cu limfocite, fapt în urma căruia nu se pot diferenţia limfocite T. Limfocitele B se diferenţiază normal. Rezultatul este o deprimare a imunităţii celulare mai exprimată decît cea întîlnită la şoarecii timectomizaţi la naştere. Această deficienţă poate fi înlăturată prin grefe de timus sau de timocite. Expresia deprimării imunităţii celulare constă în special în tolerarea transplantelor de ţesut normal sau tumoral histoincompatibil.

Consideraţi o ciudăţenie a naturii, şoarecii fără timus sînt foarte preţioşi pentru lucrările experimentale de imunologie şi cancerologie. Ei pot fi menţinuţi în viaţă, în condiţii de sterilitate, timp mai îndelungat decît şoarecii timectomizaţi, constituind un model nepreţuit în studierea rolului timusului în imunitate şi a raportului dintre celulele T şi alţi factori participanţi la reacţia imună. De exemplu, existenţa unui factor produs de timus sau de limfocitele T, care stimulează afluxul eozinofilelor spre focarele inflamatorii a fost demonstrată prin experienţe concomitente pe şoareci normali şi nuzi.

Se obţine de asemenea cu multă uşurinţă transplantarea şi menţinerea prin treceri succesive a tumorilor umane, ceea ce constituie un real avantaj pentru studiul acţiunii citostaticelor. Lipsa unei incidenţe semnificativ crescute a tumorilor maligne (Rygaard şi Povlsen, 1976) a subliniat rolul unor factori particulari de rezistenţă, în special a limfocitelor K sau N.

Scanned with OKEN Scanner

În ciuda progreselor lente realizate în ultimii ani în legătură cu aspectele mai subtile ale intervenţiei timusului în reacţia imună, în special în reacţia imună antitumorală, interesul pentru organ este menţinut de posibilitatea utilizării extractelor de timus sau a subsanţtelor capabile să reproducă acţiunea acestor extracte (substanţe imus-mimetice) în sensul stimulării proliferării şi maturaţiei limfocitelor T. Pe lîngă extractele de timus preparate de St.-M. Milcu şi Isabela Potop (1955), menţionate anterior, au fost recomandate şi alte extracte timice cu posibilă acţiune antitumorală cum sînt timozina (Allan Goldstein şi White, 1970), timina şi ubiquitina (Gedeon Goldstein, 1972), leucotrofina (Marangoli, 1973).

S-a imaginat de asemenea posibilitatea potenţării reacţiei imune antitumorale prin moderarea activităţii limfocitelor T cu acţiune supresoare asupra acestei reacţii. În acest sens, Bilha Schechter şi Feldman (1977) au obţinut rezultate interesante prin administrarea la şoareci cu tumori a unor doze convenabile de hidrocortizon, hormon la care această categorie de celule prezintă o deosebită sensibilitate. După aproape 20 de ani de cercetări asidue asupra rolului timusului în imunitate, cercetări care, după expresia lui Robert Good (1976), au constituit o piatră miliară în ştiinţă prin extraordinara lume nouă deschisă în imunobiologia celulară, organul rămîne un obiectiv preferenţial al imunologilor şi cancerologilor.

Scanned with OKEN Scanner

V

REACȚII IMUNE ÎN ORGANISME CU CANCER

Cel mai puternic argument în sensul existenței imunității antitumorale este desigur demonstrarea experimentală a eficacității acestei imunități. Numeroase cercetări au arătat că, de fapt, reacțiile imune generate de un organism purtător de tumoare malignă sînt capabile să distrugă această tumoare, cel puțin în condiții experimentale, *in vitro*. Tot ele au arătat că de cele mai multe ori acest lucru nu se întîmplă, *in vivo*, datorită unor raporturi speciale care se stabilesc între antigenul tumoral, limfocitele T (principalii responsabili ai eficacității reacției antitumorale) și anticorpii produși de limfocitele B. Datele expuse în acest capitol se referă la așa-numitele tumori nelimfomatoase, care constituie majoritatea tumorilor maligne (cancerele și sarcoamele obișnuite). Imunitatea prezintă aspecte cu totul particulare în limfoamele maligne, tumori ale organelor limfoide.

A. ASPECTE ALE IMUNITĂȚII UMORALE ÎN CANCER

Anticorpii produși de limfocitele B în urma unei solicitări antigenice au o structură globulinică, de unde denumirea mult utilizată astăzi, de *imunoglobuline* (Ig). Recent, imunoglobulinele au fost definite ca proteine de origine animală dotate cu activitate de anticorp. Ele includ și unele proteine înrudite prin structură chimică și specificitate antigenică (cum ar fi globulinele produse în mielom și unele fracțiuni globulinice produse în condiții normale și aparent lipsite de activitate). Componente caracteristice ale plasmei sanguine, ele se întîlnesc însă și în alte umori, precum și în țesuturi.

Scanned with OKEN Scanner

Se cunosc astăzi cinci clase de imunoglobuline, cu structuri asemănătoare, dar avînd proprietăţi biologice diferite: IgG, IgA, IgM, IgD şi IgE. Greutatea lor moleculară variază între 150 000, în care caz au coeficientul de sedimentare de 7S(IgG), şi 900 000, cu un coeficient de sedimentare de 19S (IgM). Descoperirea structurii imunoglobulinelor se datoreşte în special lucrărilor lui Porter şi Edelman.

Cu ajutorul papainei, enzimă cu acţiune proteolitică, molecula de Ig poate fi scindată în trei fragmente. Două dintre acestea sînt identice şi capabile să se combine cu antigenul, spre a forma complexe solubile care nu precipită, numite *fragmente de legare cu antigenul* sau Fab (*fragment antigen binding*). Al treilea fragment este lipsit de această proprietate şi cristalizează spontan la 4°, fapt din cauza căruia a şi fost numit *fragment cristalizabil* sau Fc. Schematic, imunoglobulinele G au deci următoarea formulă: IgG=1Fc+2Fab.

Acţiunea altei enzime proteolitice, pepsina, scindează molecula de anticorp după o modalitate prin care Fc apare diminuat (Fc′), iar din Fab persistă un fragment mare (de ordinul 5S), care precipită încă cu antigenul, numit F(ab′). Anticorpii pot fi descompuşi şi în constituenţii lanţurilor peptidice. Punţile disulfidice care leagă diferitele lanţuri sînt rupte prin reducerea cu un exces de reactiv sulfhidrilic, cum ar fi 2-mercaptoetanolul. Molecula rezultată are încă un coeficient de sedimentare de 7S, din cauză că lanţurile sînt menţinute împreună prin forţe necovalente. Ele pot fi însă separate prin scăderea pH. Fracţionarea ulterioară prin filtrare în gel pune în evidenţă două categorii de lanţuri peptidice, uşoare (*Light* — L) şi grele (*Heavy* — H). Pe baza acestor rezultate, Porter a propus un model al moleculei de anticorp constînd din două lanţuri grele şi două lanţuri uşoare menţinute împreună prin legături disulfidice. Fiecare fragment Fab reprezintă jumătatea terminală aminică a lanţului greu şi lanţului uşor, în timp ce Fc este jumătatea terminală carboxilică a celor două lanţuri grele (fig. 77, 78).

La microscopul electronic s-a văzut că de fapt moleculele de IgG au forma literei Y, care se deschide în urma combinării cu antigenul, regiunea asupra căreia acţionează papaina şi pepsina funcţionînd ca un pivot. Analiza aminoacizilor din această regiune arată un număr mare de resturi prolinice. Această structură este în special demonstrată de contactul dintre molecula de anticorp şi o haptenă divalentă, bis-N-dinitrofenil (DPN)-octametilen-diamina (fig. 79), în care grupările haptenice DPN sînt suficient de depărtate spre a nu se influenţa în combinarea cu anticorpul. În prezenţa IgG purificate, cele două extremităţi cu funcţie haptenică ale substanţei se cuplează fiecare cu FAB a unei molecule diferite de anticorp. În acest fel iau naştere trimeri de formă triunghiulară, tetrameri de formă pătrată, pentameri de formă pentagonală (fig. 80), care pot fi văzuţi la microscopul electronic. Trimeri se formează şi cînd

Scanned with OKEN Scanner

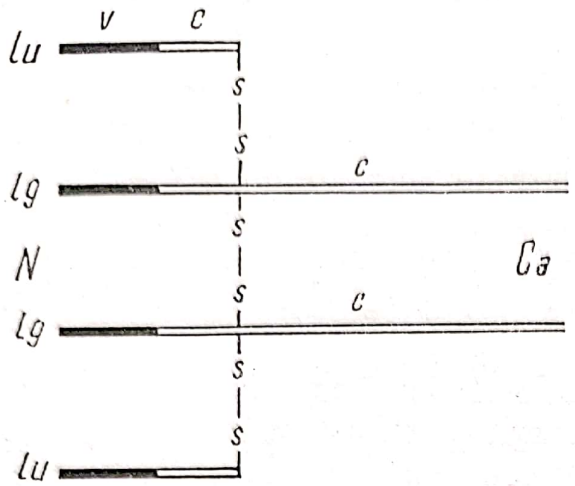


Fig. 77. — Schema structurii imunoglobulinei (după Porter):

lu = lanțuri ușoare; *lg* = lanțuri grele; *v* = porțiunea variabilă; *c* = porțiunea constantă; *N* — capăt aminic; *Ca* = capăt carboxilic.

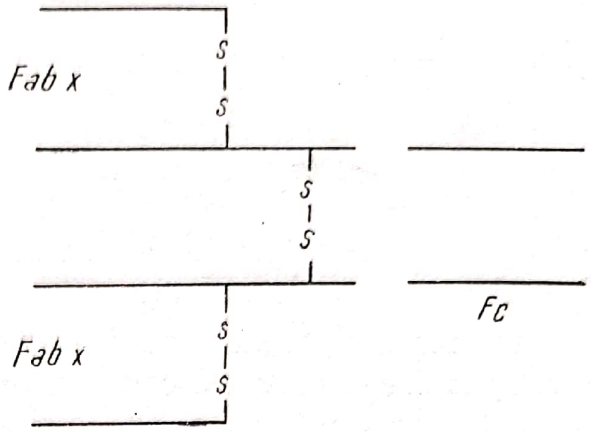


Fig. 78. — Schema imunoglobulinei după digestie cu papaină:

Fab = fragment de legare cu antigenul; *x* = locul combinării cu antigenul; *Fc* = fragment cristalizabil.

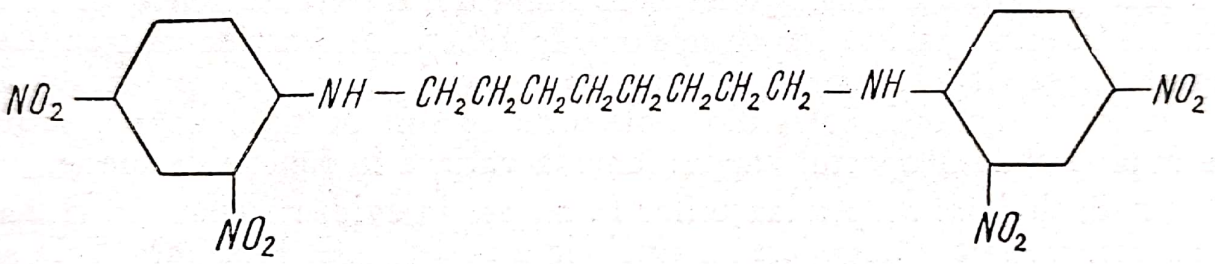


Fig. 79. — DPN-octametilen-diamine.

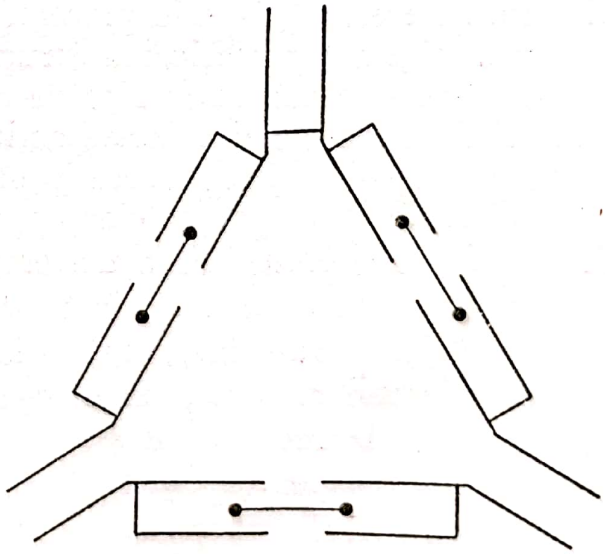


Fig. 80. — Schema trimerului de IgG anticorp unit prin haptenă divalentă.

se utilizează IgG supuse acţiunii pepsinei, deci prezenţa Fc nu este necesară producerii reacţiei.

Elucidarea structurii chimice a Ig a reprezentat o problemă deosebit de dificilă datorită complexităţii sale. O importantă clarificare s-a obţinut prin analiza structurii proteinelor produse în mielomul multiplu, cînd apare în cantitate enormă aceeaşi varietate de Ig, proteina M. Această proteină a fost studiată prin determinarea aminoacizilor constituenţi şi prin recunoaşterea grupurilor caracteristice majore cu ajutorul anticorpilor specifici obţinuţi la animale.

Analiza aminoacizilor a arătat că porţiunile terminale aminice ale lanţurilor H sau L prezintă considerabile variaţii (porţiune variabilă), în timp ce porţiunile opuse au o structură relativ constantă (porţiune constantă). Pînă acum nu s-au găsit două proteine M cu aceeaşi structură a porţiunii variabile. Această heterogenitate a Fab este responsabilă de specificitatea reacţiilor antigen-anticorp. În determinarea reacţiei, rolul principal pare să revină lanţului H, deşi probabil şi lanţurile L au o anumită cotribuţie.

Utilizarea serurilor specifice a permis punerea în evidenţă chiar la nivelul porţiunilor constante, care nu sînt interesate direct de legarea antigenului, o apreciabilă heterogenicitate. În cazul lanţurilor L, studiile s-au efectuat pe proteina Bence-Jones, constituită din dimeri de lanţuri L ce se elimină în urina pacienţilor cu mielom. În funcţie de reacţiile cu seruri de iepure, aceste lanţuri pot fi divizate în grupuri kappa (K) şi lambda λ. La indivizii sănătoşi, 65% din moleculele Ig sînt de tipul kappa, restul de tipul lambda. Raportul kappa: lambda variază în funcţie de specie.

Studii similare asupra lanţurilor H au pus în evidenţă cinci tipuri majore, care permit diferenţierea a cinci clase de Ig (IgG, IgA, IgM, IgD şi IgE), fiecare prezentînd tipuri cu lanţuri kappa sau lambda. Dacă nu participă direct în reacţia cu antigenul, Fc dirijează activitatea biologică a moleculei de anticorp. Ea determină distribuţia Ig în organism, condiţionînd trecerea IgG prin placentă şi a IgA în secreţii. După combinarea cu antigenul, modificarea structurală a anticorpului permite Fc să fixeze complementul, să se lege de macrofage şi să producă degranularea mastocitelor. Fiecare din aceste acţiuni necesită tipuri de Fc cu secvenţă de aminoacizi şi deci cu structură diferită.

IgG reprezintă aparent clasa predominantă în cursul reacţiilor secundare. Prin proprietatea de a traversa placenta, reprezintă principala apărare contra infecţiilor în prima perioadă a vieţii. Pătrund cu uşurinţă în spaţiile extravasculare, neutralizînd toxinele bacteriene şi acţionînd asupra microbilor. Aderenţa complexelor IgG-bacterii pe suprafaţa fagocitelor se datoreşte prezenţei pe suprafaţa acestor celule a receptorilor pentru Fc, ca şi pentru C_3. IgG nu se leagă de mastocite şi unele din ele nu se leagă nici de macrofage sau nu fixează complementul. Dintre toate

Scanned with OKEN Scanner

Ig umane, ele singure se fixează de pielea de cobai, ceea ce constituie un procedeu de izolare a lor.

IgA se găsesc în ser ca monomeri 7S, dar pot forma spontan polimeri. Apar selectiv în secreţiile seromucoase ca saliva, lacrimile, secreţiile nazale, bronhopulmonare, gastrointestinale şi în colostru. Rolul major este apărarea suprafeţelor respective împotriva infecţiilor microbiene. Se găsesc la acest nivel într-o formă dimerică stabilizată prin combinare cu o componentă secretorie produsă de celulele epiteliale respective. Nu fixează complementul, care dealtfel este foarte sărac la nivelul acestor secreţii.

IgM se caracterizează prin greutatea moleculară mare şi exprimata lor activitate aglutinantă şi citolitică. Întrucît apar în sînge în fazele precoce ale infecţiei, par a avea o importanţă deosebită în septicemii. Izohemaglutininele, majoritatea anticorpilor antimicrobieni naturali, anticorpii anti-O în febra tifoidă şi cei responsabili de reacţia Wassermann sînt formaţi din IgM. S-a menţionat că IgM au precedat apariţia IgG pe scară filogenetică.

IgD au fost izolate de la pacienţi cu mielom; se pare că constituie anticorpii anti-serum-albumină bovină din lichidul intestinal.

IgE se găsesc în mici proporţii în ser. Ele se fixeaxă pe suprafaţa mastocitelor şi produc, în urma contactului cu antigenul, degranularea acestor celule, cu eliberare de histamină. Sînt responsabile de simptomatologia bolilor alergice şi a şocului anafilactic. Concentraţia lor creşte în unele parazitoze, sugerînd că eliberarea de histamină ajută la eliminarea acestora.

Analiza antigenică a IgG din mielom a permis gruparea lor în subclase (IgG_1, IgG_2, IgG_3, IgG_4), pe baza unor diferenţe structurale ale lanţurilor H ţinînd de secvenţa de aminoacizi şi notate cu γ_1, γ_2, γ_3, γ_4. Aceste diferenţe structurale produc unele diferenţe de comportare funcţională. S-au descoperit două subclase de IgA şi de IgM. Subclasa IgA_2 este lipsită de legături disulfidice între lanţurile H şi L.

Există mai multe aspecte sub care producerea reacţiei dintre anticorpi şi antigeni poate fi apreciată, în cazul cînd diluţii progresive de ser se pun în contact cu o cantitate convenabilă de antigen. Reacţia apare într-o anumită zonă de diluţie a serului în care anticorpii se găsesc într-o concentraţie potrivită, realizîndu-se o echivalenţă. Lipsa de reacţie la nivelul unor diluţii mici de ser constituie fenomenul de prozonă. La diluţii prea mari, reacţia de asemenea nu se mai produce (fenomenul de postzonă).

Reacţia antigen-anticorp se produce în două faze. În prima fază, care are loc imediat după contact, combinarea anticorpului cu antigenul este lipsită de expresie macroscopică. În a doua fază, care necesită trecerea unui anumit timp, un mediu cu electroliţi şi o anumită temperatură, combinarea celor două principii se traduce printr-o reacţie vizibilă. După

Scanned with OKEN Scanner

ipoteza reţelei lui Marrack, moleculele de antigen şi anticorp se unesc prin grupări determinante specifice cu afinitate reciprocă, sub formă de combinaţii stabile dar disociabile. Prin combinaţii şi disociaţii succesive se realizează pînă la urmă o reţea de molecule alternative de antigen şi anticorp. Cînd există o echivalenţă între concentraţia celor doi factori, toate moleculele de antigen şi anticorp sînt utilizate la formarea reţelei. Aceasta se datoreşte faptului că fiecare antigen se combină cu două molecule de anticorp, după cum fiecare anticorp se combină cu două molecule de antigen. Cînd există un exces de anticorp (fenomenul de prozonă), reţeaua nu se mai formează, întrucît o moleculă de antigen are şanse mult mai mari să se combine cu un anticorp liber, decît cu unul care a fixat deja un antigen. Lucrurile se produc invers în cazul diluţiilor mari de anticorp (fenomenul de postzonă) (fig. 81).

Cel mai frecvent aspect al reacţiei dintre antigen şi anticorp este *precipitarea*, adică evidenţierea reacţiei sub forma unei opalescenţe în lichidul sau gelul în care ea are loc. De la descoperirea ei de către Kraus, în 1897, reacţia a fost mult utilizată în diagnosticul infecţiilor microbiene şi în tipizarea microbilor, sub forma a diferite tehnici, în tuburi sau pe lamă. Folosirea gelului ca mediu de precipitare de către Outcherlony a mărit mult posibilităţile de aplicare a metodei în diagnostic şi cercetare. Imunoelectroforeza în gel bazată pe precipitarea Ig

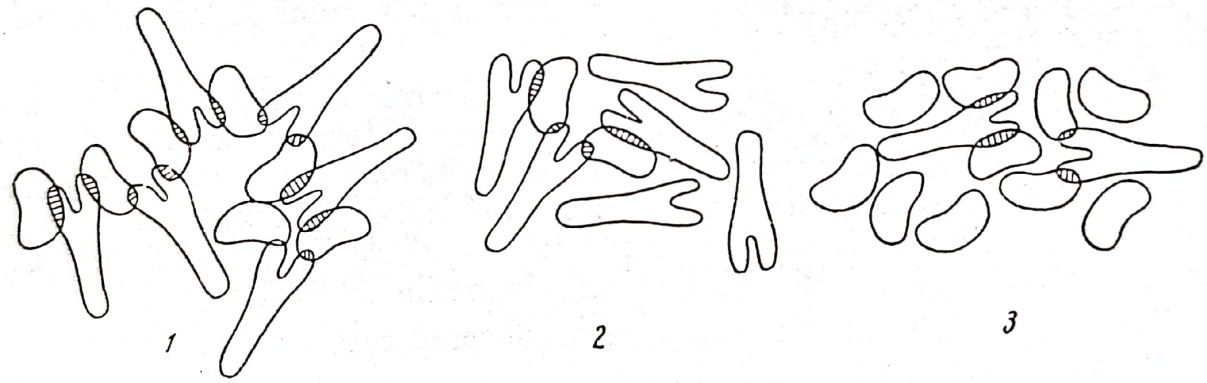


Fig. 81. — Raporturi între antigene şi anticorpi:
1 = echivalenţă (reacţie pozitivă); *2* = exces de anticorp (fenomen de prozonă); *3* = exces de antigen (fenomen de postzonă).

de către seruri specifice a permis studiul diferitelor clase de imunoglobuline. Marcarea anticorpilor cu substanţe fluorescente, izotopi radioactivi sau feritină a permis evidenţierea fenomenului de precipitare *in vivo*, prin metode de imunofluorescenţă, autohistoradiografie sau microscopie electronică, metode mult aplicate în imunologia antitumorală.

Alte metode de evidenţiere a reacţiei antigen-anticorp sînt *aglutinarea*, cînd combinarea anticorpilor cu antigenii de pe suprafaţa unor bac-

Scanned with OKEN Scanner

terii sau celule duce la aglutinarea sau agregarea acestora, *fixarea complementului*, cînd complexul antigen-anticorp fixează complementul, *bacterioliza*, *citoliza* şi *neutralizarea*, cînd după combinare cu anticorpul şi fixarea complementului, bacteria, celula sau virusul sînt distruse.

Cercetări făcute în special de Southam (1968) au arătat că la pacienţii cu forme obişnuite de cancer, care n-au fost supuşi unei terapii imunodepresive, nu se constată o scădere apreciabilă a capacităţii de formare a anticorpilor, chiar în forme avansate, ale bolii. De exemplu, pacienţi cu astfel de forme avansate, inoculaţi în scop terapeutic cu virusul Nilului de Vest sau alte virusuri oncolitice reacţionează prin anticorpi faţă de aceste infecţii la fel de prompt ca şi indivizii normali (Southam şi Moore, 1954; Southam şi Green, 1958). Vaccinarea unor pacienţi cu forme avansate, metastazante de cancer mamar sau al cavităţii bucale, cu vaccin amaril, în comparaţie cu indivizi sănătoşi şi urmărirea atentă a anticorpilor n-a arătat diferenţe apreciabile între cele două categorii de pacienţi.

Urmărirea izoanticorpilor la pacienţi cu cancer şi indivizi normali transplantaţi cu ţesut uman n-a arătat diferenţe între cele două grupe de pacienţi, în ciuda faptului că eliminarea transplantului era întîrziată la canceroşi. Nu există deci anomalii calitative sau cantitative ale reacţiei cu anticorpi faţă de infecţiile virale sau antigenii de histocompatibilitate la pacienţii cu cancer.

Dimpotrivă, la aceşti pacienţi se obţin titruri mai ridicate faţă de antigenul polizaharidic pneumococic şi reacţii normale faţă de toxoidul difteric sau tetanic (Leskowitz şi colab., 1957), deşi au fost şi cazuri de reacţie diminuată la toxoidul tetanic (Lytton şi Huges, 1964). Titruri normale de anticorpi au fost observate şi faţă de antigeni de tularemie şi bacili coli (Levin şi colab., 1964), cu excepţia cazurilor tratate cu citostatice, la care producerea acestor anticorpi era diminuată sau suprimată. Nu s-au găsit diferenţe nici între titrul de anticorpi ai unor pacienţi canceroşi caşectici induşi de rapelul antidifteric şi titrul aceloraşi anticorpi la pacienţi cu boli netumorale, în stare bună de nutriţie (Blach, 1950).

Studii de electroforeză şi imunoelectroforeză au arătat că singura modificare apreciabilă este creşterea concentraţiei beta-globulinelor, care nu au semnificaţie imunologică şi scăderea albuminelor, ca în toate bolile consumptive. În general, gamma-globulinele apar normale la pacienţii cu cancer (Winzler, 1953; Peterman, 1963). În acelaşi sens, Lucia Vlad şi colab. (1972), studiind aspectul imunoeletroforezei unor paciente cu tumori mamare benigne şi maligne, nu găsesc diferenţe semnificative între purtătoarele unor tumori benigne şi maligne, valorile albuminei scăzînd iar ale globulinelor crescînd în raport cu vîrsta.

Scanned with OKEN Scanner

Studiind însă imunoglobulinele serice prin metoda imunoelectroforezei, cu determinări cantitative după tehnica lui Mancini, Chiricuță, Doina Ionescu și Titus Mureșian (1971) au constatat, pe 100 de bolnave cu tumori mamare maligne, că procesul de metastazare este însoțit în 82% din cazuri de o scădere evidentă a IgG, care precedă cu 1—12 luni apariția metastazelor, constituind un important semn prognostic. Această observație coincide cu cele asupra unei scăderi sau chiar a dispariției anticorpilor antitumorali la pacienți cu diverse tumori maligne, în special melanice, înainte de apariția unor metastaze extinse. În unele cazuri s-a putut corela dispariția acestor anticorpi cu prezența unor anti-anticorpi cu structură IgG, cu activitatea specifică anti-IgG (Lewis și colab., 1971), în genul celor care se întîlnesc în unele boli infecțioase, în special în reumatism.

Cercetînd această problemă la pacienți cu melanoame sau alte tumori maligne, Hartmann și Lewis (1974) au pus de fapt în evidență anticorpi anti-Fab cu acțiune aglutinantă, dirijați împotriva anticorpilor antitumorali. Acești anticorpi au fost puși în evidență numai în serul pacienților cu metastaze relativ recente și nu la cei cu tumori locale sau cu metastaze extinse.

Studiind producerea de Ig de către ganglionii regionali ai unor pacienți cu tumori maligne, Burtin și colab. (1969) au observat, prin metode de imunofluorescență, creșterea producției de Ig în unii ganglioni care prezentau semne de reacție activă, în timp ce alții, deși erau bogați în foliculi, nu conțineau celule secretoare de Ig. După acești autori, n-ar exista un raport între prezența și absența metastazelor și producerea de Ig, în general, celulele din jurul metastazelor nu erau active în acest sens. S-au pus în evidență în special IgA, deci anticorpi care nefixînd complementul, sînt lipsiți de toxicitate. Rezultate mai concludente au fost obținute de Chiricuță, Cornelia Todoruțiu, Titus Mureșian și Rodica Mulea (1972) pe șobolani transplantați cu tumoare Walker, vaccinați cu toxoid tetanic sau difteric la 8 zile după transplantare. La 8 zile după ultima injecție și 30 de zile după transplantare s-au recoltat ganglionii axilari și s-au menținut în culturi timp de 9 zile, determinîndu-se în fiecare zi titrul de anticorpi antidifterici și antitetanici în mediul de cultură, după tehnica lui Boyden. Anticorpii apar în lichidul de cultură din primele 24 de ore și titrul lor crește progresiv pînă în zilele 5—7. Această creștere evidentă în ganglionii hipertrofiați fără metastaze (similară celei din ganglionii unor animale cu homotrasplante de mușchi) este mult mai redusă în ganglionii care prezentau metastaze. Aceasta corespunde cu diminuarea progresivă a plasmocitelor pironinofile în ganglionii cu metastaze. Rezultatele subliniază rolul de baraj temporar pe care îl au ganglionii limfatici în calea proliferării tumorale. Burtin și colab. (1965) au studiat prezența autoanticorpilor față de propria tumoare la pacienți cu

Scanned with OKEN Scanner

cancer gastric, colic şi mamar. S-au preparat extracte din ţesutul tumoral şi normal, ca şi din ţesutul embrionar al organului respectiv. Pentru control s-au utilizat serurile provenite de la pacienţi cu alte localizări neoplazice sau cu boli nemaligne. S-au preparat antiseruri specifice de iepure faţă de extractele celor trei categorii de tumori menţionate. Autoanticorpii au fost studiaţi prin metode de hemaglutinare pasivă şi imunofluorescenţă. La toate cele trei grupuri de pacienţi s-au pus în evidenţă autoanticorpi faţă de extractul tumoral. 65% din pacienţii cu cancer gastric, 62% din cei cu cancer al colonului şi 82% din pacientele cu cancer mamar au prezentat autoanticorpi la titruri semnificativ crescute, în comparaţie cu cei ai martorilor faţă de ţesutul propriu normal. Anticorpii au reacţionat şi cu tumoarea analoagă a altui pacient. Serurile de iepure au reacţionat la titruri ridicate faţă de extractele tumorale.

Rolul acestor autoanticorpi va fi discutat în continuare, în legătură cu raporturile care se stabilesc, la pacienţi cu cancer, între antigeni, anticorpi şi limfocite. Ei pot fi puşi în evidenţă, cum au făcut şi autorii menţionaţi, prin probe de imunofluorescenţă, hemaglutinare sau imunoaderenţă. Uneori li se poate demonstra eficacitatea prin probe de citotoxicitate, dar fenomenul nu apare bine evident decît cu celule provenite din limfoame maligne sau leucemii, şi nu cu celule carcinomatoase sau sarcomatoase obişnuite. Cînd probele de citotoxicitate obişnuită, în reacţii pe termen scurt, sînt negative, se pot obţine rezultate utilizînd probe de citotoxicitate tardivă. Se apreciază inhibiţia exercitată de anticorpi asupra celulelor tumorale din inhibiţia dezvoltării coloniilor. După cum se va vedea, de cele mai multe ori prezenţa serului inhibă însă acţiunea limfocitelor, avînd un efect protector asupra celulelor tumorale.

Acţiunea anticorpilor propriu-zişi nu trebuie confundată cu limfokinele produse de limfocitele circulante, cu acţiune citotoxică directă sau printr-un fenomen de armare a macrofagelor sau limfocitelor K. Astfel, Proctor şi colab., (1973) au pus în evidenţă în serul şobolanilor purtători de sarcoame induse cu metil-colantren un factor cu acţiune preventivă asupra metastazării pulmonare, după inoculare intravenoasă. Legătura lui cu limfocitele este demonstrată de acţiunea similară a transfuziei acestor celule. Întrucît acţiunea sa pare să se exercite printr-un fenomen de armare specifică a macrofagelor, autorii l-au numit factor de armare specifică a macrofagelor.

B. FACTORI UMORALI NESPECIFICI ÎN CANCER

În urmă cu cîţiva ani s-a acordat importanţă unei eventuale alterări în cancer a factorilor umorali nespecifici de rezistenţă, cum ar fi complementul, properdina sau interferonii.

Scanned with OKEN Scanner

1. COMPLEMENTUL

Complementul reprezintă un sistem de proteine serice care reacţionează cu antigenul şi anticorpul producînd efecte citolitice, chemotactice, anafilactice sau de altă natură. Prin aceasta el este unul dintre elementele fundamentale ale imunităţii umorale. Considerat mult timp ca un auxiliar al lizei microbiene de către anticorpi şi utilizat în diagnosticul serologic al infecţiilor, intervenţia sa a fost demonstrată în reacţiile anafilactice şi stările autoimune şi chiar în reacţiile antitransplant sau antitumorale.

Ceea ce se considera o singură substanţă s-a dovedit a fi un sistem format, în conformitate cu cunoştinţele actuale, din 11 proteine, care acţionează în legătură una cu alta, activîndu-se una pe alta într-o secvenţă precisă. În general, acţiunea litică apare numai în urma activării tuturor componentelor, deşi uneori unele din ele pot fi scurt-circuitate. Porţiuni din sistemul complementar contribuie la fagocitoză, favorizînd opsonizarea (prepararea microbilor în vederea fagocitării), chemotaxia (atragerea leucocitelor în focarul inflamator) sau imunoaderenţa (contactul între leucocite în vederea realizării reacţiei imune). El ia parte la formarea anafilotoxinei (substanţă polipeptidică rezultată din combinarea fracţiunilor 3 şi 5 ale complementului, care determină eliberarea histaminei din mastocite). Activarea sistemului complementar este legată de factorul Hageman, al XII-lea factor al coagulării sanguine.

Complementul este o componentă normală a serului vertebratelor, inclusiv al peştilor. Concentraţia lui nu creşte prin imunizare. Acţiunea litică a complementului în cursul reacţiilor antigen-anticorp este distrusă prin încălzire timp de 30 de minute la 56°, datorită labilităţii termice a unor enzime care iau naştere în cursul activării sistemului; prin acest procedeu nu sînt însă inactivate imunoglobulinele care produc reacţia imună, care fixează complementul. Pe aceasta se bazează reacţia de fixare a complementului, mult utilizată în diagnosticul bolilor infecţioase, dar şi în studii de imunologie tumorală.

Complementul este fixat de toate reacţiile antigen-anticorp în care anticorpul este de natură IgM şi în cele mai multe reacţii la care participă IgG. Unele subclase de IgG, ca şi IgA şi IgE nu fixează de obicei complementul. El este un principiu serologic nespecific, în sensul că de obicei este fixat de reacţii produse de Ig de alte specii, mai ales din aceeaşi clasă; o anumită specificitate de clasă reiese din capacitatea mai mică de reacţie a complementului aviar sau piscin cu Ig de mamifere.

Cele 11 proteine care formează sistemul complementar se notează cu litera C, urmată de cifra respectivă, de la 1 la 9, avînd în vedere că C1 este formată din trei subunităţi: C_1q, C_1r, C_1s. Fracţiunile sînt desemnate de cifre în ordinea intervenţiei lor în reacţie, cu excepţia fracţiunii C_4,

Scanned with OKEN Scanner

care intervine după C1 şi înainte de C2 (numerotarea făcîndu-se înainte de a se stabili ordinea precisă de intervenţie a fracţiunilor).

Cele 11 fracţiuni se grupează, în cursul reacţiei, în trei unităţi funcţionale macromoleculare: (a) macromolecula C1q, r, s, avînd funcţia de a recunoaşte complexul antigen-anticorp şi a declanşa reacţia; (b) enzima

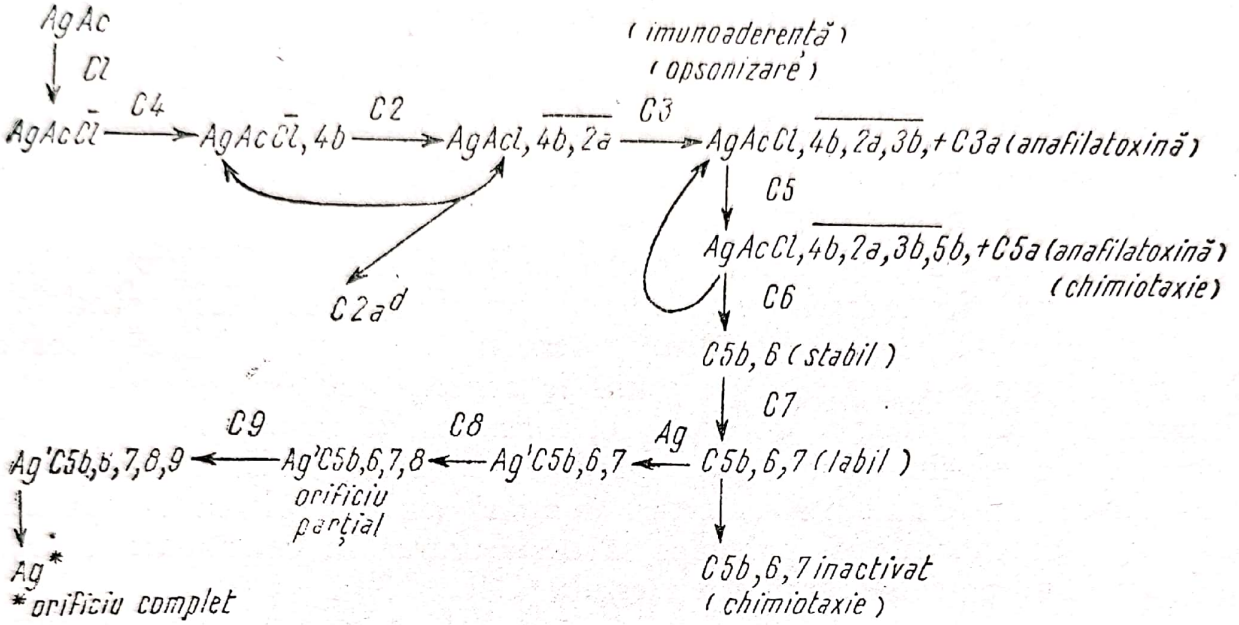


Fig. 82. — Schema sistemului complementar (după Mayer, 1975):
Ag = antigen; *Ac* = anticorp.

C4b, 2a, 3b, care activează elementele capabile de citoliză; (c) unitatea citolitică propriu-zisă, compusă din fragmentele C5b—C9 (fig. 82).

Molecula C1q are capacitatea de a se combina cu complexele antigen-anticorp datorită afinităţii sale pentru receptorii segmentului Fc al moleculei de anticorp. Combinarea anticorpului cu antigenul duce la modificarea formei sale, cu evidenţierea receptorilor regiunii Fc care fixează C1q, ulterior activat de un radical de triptofan conţinut la acest nivel al Ig. Aceasta permite, în continuare, activarea fracţiunii C1s, prin intermediul fracţiunii C1r. Activarea unităţii C1 (care se notează $\overline{C1}$) se traduce prin trecerea unei esteraze din forma inactivă în cea activă, avînd proprietăţi proteolitice analoage tripsinei şi chimotripsinei. Rolul esterazei $\overline{C1}$ este de a acţiona asupra următoarelor componente ale sistemului, C4 şi C2.

Formarea enzimei responsabile de activarea factorilor citolizei începe prin acţiunea $\overline{C1}$s asupra proteinei C4 care este scindată într-un fragment mare, C4b, şi unul mic, C4a. Prin aceasta se activează o grupare chimică de pe C4b susceptibilă să se combine cu receptorii de pe suprafeţele celulare. Întrucît această grupare are o existenţă scurtă, numai o mică proporţie din fragmentele C4b se pot combina cu receptorii celu-

lari, restul rămînînd în stare intactă. În continuare, proteina C2 este adsorbită pe C4b fixat de suprafaţa celulară, reacţie favorizată de sărurile de magneziu. În urma acestei adsorbţii, molecula C2 este scindată de o moleculă $\overline{C1s}$ vecină în două fragmente mari, dintre care unul, C2a, se fixează pe C4b dînd naştere complexului $\overline{C4b.2a}$, care este o enzimă activată, a cărei porţiune activă este reprezentată de C2a. Substratul natural al acestei enzime este C3.

Acţiunea enzimatică se traduce prin scindarea proteinei C3 în fragmentele C3a şi C3b. Fragmentul C3a poate induce eliberarea de histamină din mastocite, granulocite bazofile sau trombocite, fiind un mediator al reacţiilor alergice sau inflamatorii.

Fragmentul C3b, cu greutate moleculară mare, posedă o grupare chimică ce îi permite fixarea pe receptorii suprafeţelor celulare, avînd însă şi el o existenţă scurtă. Excedentul persistă în acest caz într-o formă inactivă. Fragmentele fixate pe celule le conferă acestora proprietăţi de imunoaderenţă, inducînd, de exemplu, formarea de rozete pe seama leucocitelor, la nivelul cărora este facilitată fagocitoza. Unele fragmente C3b fixate cu o anumită orientare spaţială (în apropierea compusului C4b.2a) sînt capabile să participe la desfăşurarea în continuare a reacţiei, devenind parte integrantă a acestuia (C4b.2a.3b).

Acest compus trimolecular este de fapt o enzimă; substratul său, C5, este scindat în două fragmente inegale. Fragmentul mic, C5a, este un factor chimiotactic avînd proprietatea de a media eliberarea de histamină din celulele care o conţin. Fragmentul mare, C5b, posedă o grupare chimică ce îi permite să se combine în mod reversibil cu proteina C6, care îl stabilizează în forma sa activată. Aceasta îi dă posibilitatea să reacţioneze cu C7 şi C8.

Reacţia complexului C5b6 cu C7 duce la formarea complexului molecular C5b.6.7, care reprezintă prima parte a unităţii de citoliză C5b-9, cu acţiune asupra membranelor celulare. Complexul C5b.6.7 se poate combina cu eritrocitele în lipsa anticorpului, dînd complexul EC5b. 6.7, care este descompus de contactul cu C8 şi C9. El ar putea pătrunde în dublul strat fosfolipidic al membranei eritrocitare, fără a produce însă leziuni.

După antrenarea în reacţie a proteinei C8, se produc leziuni ale membranelor într-un ritm foarte lent. Intervenţia în reacţie a poteinei C9 accelerează foarte mult acest proces. C8 se combină cu porţiunea C5b a complexului C5b. 6.7, apoi C9 se combină cu C8.

După cum s-a menţionat, pe lîngă această cale clasică de activare a sistemului complementar, există alternativa unor căi mai scurte. Astfel, endotoxinele bacteriene lipopolizaharidice pot fixa complementul fără interesarea primelor 3 fracţiuni. În acelaşi sens acţionează uneori agregate

Scanned with OKEN Scanner

de Ig, chiar de natură IgA sau IgE, care de obicei nu activează enzima (fig. 82).

Mai interesantă este problema mecanismului de acţiune a complementului asupra membranelor celulare, ducînd la citoliză. Cînd complementul este adăugat unei suspensii de celule puse în contact cu anticorpii specifici, celulele se umflă pînă cînd membrana se rupe şi conţinutul celular iese în exterior. Lezarea membranei celulare de către complement face ca aceasta să se comporte ca o membrană semipermeabilă, în care s-au produs orificii suficient de mari spre a permite trecerea soluţiilor hidrosaline, dar prea mici pentru ca macromoleculele proteice să poată trece.

Examinările la microscop electronic arată că de fapt membranele prezintă în aceste condiţii modificări asemănătoare unor orificii, sub forma unui inel clar înconjurînd o zonă întunecată, deprimată, de dimensiuni uniforme. Se pare că, în funcţie de specie, complementul produce leziuni de anumite dimensiuni. S-au încercat diferite explicaţii ale mecanismului de producere al acestor leziuni, fără să fie sigur că ele sînt de fapt orificii. În conformitate cu teoria mai veche a leziunii unice (*one-hit theory*), realizarea unui singur orificiu ar antrena liza celulară, fenomen contrazis de capacitatea sistemului de a se fixa la mai multe niveluri pe suprafaţa celulei. După ipoteza spărturii (*leaky patch model*), complementul activat generează ctîeva mii de molecule de substanţă citolitică, care ar pătrunde în interiorul membranei la nivelul locului de contact, distrugînd dublul strat lipidic al acesteia şi producînd o spărtură. Întrucît, datorită fluidităţii acestor straturi, ar trebui cantităţi foarte mari din această substanţă pentru a menţine orificiul deschis, Mayer (1975) a emis ipoteza „gogoaşei" (*doughnut*), după care, acţiunea complementului se traduce prin realizarea unui orificiu stabil creat de o structură inelară rigidă integrată în straturile lipidice. Această structură rigidă, care menţine deschis orificiul permiţînd o cumunicare între interiorul celulei şi compartimentul extracelular, ar fi realizată de proteinele complementare. Inserţia, ca o gogoaşă în membrana celulară, necesită hidroliza enzimatică a cîtorva molecule fosfolipidice. În acest sens, Iles şi colab. (1973) au observat la microscopul electronic prezenţa la nivelul membranelor supuse acţiunii complementului a unor agregate globulare în formă de inel, care nu se găsesc pe suprafaţa membranelor celulelor supuse numai acţiunii anticorpilor. Agregatele apar constituite din mai multe unităţi şi străbat dublul strat lipidic al membranei. Aceleaşi leziuni inelare care străbat ca un tunel dublul strat al membranei au fost observate şi de Lachman şi colab. (1973). Pare foarte probabil ca inelele care perforează membrana să fie formate din fracţiunile C5—C9. Ele formează complexe moleculare cu proteinele membranei.

Scanned with OKEN Scanner

Primele lucrări asupra complementului au subliniat acţiunea sa bacteriolitică şi hemolitică. Curînd s-a presupus intervenţia sa şi în alte procese imune, cum ar fi producerea de substanţe chimiotactice care activează inflamaţia, eliberarea de histamină, fenomenul de imunoaderenţă şi chiar coagularea sanguină, subliniindu-se rolul său în reacţiile inflamatorii sau inflamator-alergice. Ulterior s-a demonstrat intervenţia complementului în producerea leziunilor din bolile autoimune, în special nefrită, lupus, reumatism cronic. Eliberarea histaminei prin intervenţia complementului are un rol esenţial în producerea bolii serului. Complementul poate interveni şi în eliminarea transplantelor. În cursul eliminării transplantelor renale umane se constată scăderea titrului plasmatic al fracţiunilor C2 şi C3, iar în deficienţele congenitale ale complementului, transplantele sînt eliminate cu întîrziere.

Participarea constantă a sistemului complementar la desfăşurarea diferitelor reacţii imune a ridicat problema intervenţiei sale în realizarea imunităţii antitumorale. Această eventualitate a fost sugerată de incidenţa redusă a tumorilor maligne la cobai, animale caracterizate prin valori ridicate şi constante ale complementului.

Primele lucrări în acest sens au fost efectuate de Chester Southam (1951), ele constituind dotodată şi primele preocupări de imunologie tumorală ale acestui pasionat pionier al problemei. În general, nu s-a constatat o diminuare a activităţii complementului la pacienţii cu cancer. Nivelul său seric, apreciat prin activitatea hemolitică totală sau fenomenul de imunoaderenţă, apare normal sau chiar mai ridicat. McKenzie şi colab. (1967) au pus în evidenţă, la pacienţii cu cancer, creşterea fracţiunilor C8 şi C9 în raport cu martorii. Urmărind activitatea hemolitică totală, ca şi nivelul fracţiunilor C3 şi C4 şi C1q la 200 de pacienţi cu cancer în comparaţie cu 90 de persoane sănătoase, Verhaegen şi colab. (1966) găsesc valori semnificativ crescute la primul grup. Aceste valori revin la normal în perioadele de remisiune consecutive unui tratament şi cresc din nou odată cu apariţia metastazelor; în fazele finale ale bolii se produce însă scăderea nivelului fracţiunilor examinate. Autorii explică aceste variaţii legate de evoluţia bolii în modul următor: valorile ridicate ar fi urmarea antigenicităţii masei tumorale care constituie un stimul continuu pentru producţia de anticorpi, care la rîndul ei ar induce o creştere a concentraţiei complementului. În fazele terminale, masa tumorală excesivă produce consumul complementului pe măsura produceriii sale.

Observînd acelaşi fenomen, Nishioka şi colab. (1976) încearcă să explice contrastul dintre deprimarea imunităţii celulare şi creşterea cantităţii de complement, sugerînd că ultimul fenomen ar apărea ca o compensare. Ei clasifică pacienţii cu cancer în 6 faze, în funcţie de valorile complementului şi reactivitatea la tuberculină, persoanele sănătoase constituind stadiul I (reacţie la tuberculină pozitivă şi valori normale ale

Scanned with OKEN Scanner

complementului). În stadiul II, corespunzător unor forme incipiente de cancer, pe lîngă reacţia pozitivă la tuberculină cresc şi valorile complementului. Tratamentul eficient al tumorii produce de obicei revenirea la stadiul I. În stadiul II , care exprimă o tumoare în plină evoluţie, reacţia la tuberculină scade în intensitate, în timp ce complementul continuă să rămînă crescut. În stadiul IV, stadiul avansat al tumorii, reacţia la tuberculină este negativă, iar complementul prezintă de obicei valori normale. În stadiul V, terminal, pe lîngă reacţia la tuberculină negativă, complementul apare scăzut. Sistemul complementar ar acţiona deci sinergic cu celelalte sisteme imune, celulare şi umorale, în cadrul supravegherii imunologice a organismului. Alterarea unui sistem (în cazul cancerului, în special a imunităţii celulare) ar determina hiperfuncţia altui sistem (a celui complementar). Această compensare ar avea la bază localizarea pe acelaşi cromozom, în raporturi strînse, a genei care determină complementul cu genele Ir şi sistemul de histocompatibilitate majoră. De fapt, pe lîngă boala canceroasă, deprimarea imunităţii celulare asociată cu creşterea valorilor complementului se întîlneşte într-o serie de boli infecţios-alergice (lepră, sarcoidoză, granulomatoză Wegener).

Sînt necesare însă noi studii pentru elucidarea acestei complicate, dar interesante probleme şi pentru confirmarea intervenţiei eficiente a complementului în imunitatea antitumorală.

2. PROPERDINA

Properdina este un complex de enzime serice capabile să activeze complementul. În 1965, Pillemer a descris o reacţie de fixare a complementului între globulinele serice şi zimozan (preparat polizaharidic extras din levuri), pe care a pus-o pe seama unui tip primordial de anticorp numit de el properdină. Reacţia producea liza bacteriilor gram-negative şi neutraliza bacteriofagii. El a considerat properdina un mecanism nespecific de apărare, capabil să reacţioneze cu o largă varietate de microorganisme potenţial patogene. După o perioadă în care existenţa properdinei ca factor independent de anticorpi sau complement a fost pusă la îndoială, s-a putut totuşi demonstra existenţa unei proteine serice diferite de anticorpii clasici sau complement, deşi activitatea properdinei propriu-zise este dificil de determinat, făcînt abstracţie de anticorpi. Properdina apare compusă din patru substanţe: factorul P, care se combină cu zimozanul sau alte glucide complexe, factorul A, sensibil la acţiunea hidrazinei, factorul B, termolabil, identic cu proactivatorul C3, şi factorul D.

S-a mai descris un al cincilea factor, E, necesar acţiunii veninului de cobra asupra fracţiunii C3, a cărui apartenenţă la sistemul properdinic propriu-zis nu este sigură. Se pare că polizaharizii insolubili se combină

Scanned with OKEN Scanner

cu factorul P, care activează factorul A. Forma activată a factorului A, sub influenţa factorului D sau a veninului de cobra, activează factorul B. Acesta eliberează factorul E sau îl modifică, permiţîndu-i să activeze fracţiunea C3 a complementului, care activează restul sistemului pînă la C9. Acest mecanism de scurtare a activării complementului este încă ipotetic.

Studiindu-se properdina în serul pacienţilor cu cancer, s-a observat că serul multora dintre ei este lipsit de o astfel de activitate. Lucrări afectuate de Pillemer (1956) au pus în evidenţă acest aspect, în comparaţie cu serul activ al persoanelor sănătoase, absenţa reacţiei fiind corelată de Southam şi Pillemer (1957) cu incapacitatea acestor pacienţi de a respinge homotransplante. În continuare, Southam (1958) a arătat că 40% din pacienţii cu forme avansate de cancer nu prezintă activitate properdinică detectabilă, 54% din ei avînd această activitate diminuată. Aceasta în contrast cu persoanele sănătoase, dintre care numai 4% nu prezentau activitate şi 23% prezentau o activitate diminuată. Serul cancerosilor are mult mai des reacţii „de zonă" decît al martorilor (adică prezintă activitate properdinică numai după diluţie), sugerînd existenţa unui inhibitor eficient numai în serul nediluat. S-ar putea ca, de fapt, lipsa activităţii properdinei să se datorească mai degrabă unei creşteri a concentraţiei unor astfel de inhibitori, decît absenţei sale. Această ipoteză coincide cu observaţia că, atunci cînd se administrează pacienţilor lipsiţi de activitate properdinică mari cantităţi de globulină serică, cu puternică activitate properdinică, această activitate dispare foarte rapid, spre deosebire de persoanele avînd prezentă properdina serică, la care se obţine creşterea acestei activităţi pentru un timp corespunzător persistenţei globulinelor umane.

Apreciind unele lucrări asupra scăderii activităţii properdinice la pacienţi cu cancer, bazate pe teste de bacterioliză sau neutralizare a bacteriofagului, Southam (1968) crede că aceste teste exprimă deficienţa mai multor factori care reacţionează cu microbii sau produsele microbiene.

Importanţa studierii în continuare a activităţii properdinei la pacienţi cu tumori maligne rezultă şi din faptul că ea este considerabil scăzută atît la cei cu limfoame maligne, cît şi la cei cu tumori maligne obişnuite.

3. INTERFERONI

Interferonii sînt proteine eliberate de o celulă infectată cu un parazit intracelular, care protejează celulele de invazia parazitului respectiv sau a altor paraziţi.

Interferonul a fost descoperit de Isaacs şi Lindenmann în organisme infectate cu virusuri, ulterior identificîndu-se mai multe tipuri de interferon cu diferite greutăţi moleculare (între 18 000 şi 100 000). Com-

Scanned with OKEN Scanner

plexitatea moleculară a interferonilor variază în funcţie de specie, dar şi în cadrul speciei sau chiar la acelaşi individ. Aceasta ţine probabil şi de natura celulei care produce interferonul, dintre care limfocitele sînt cele mai importante. Principalele surse de interferon sînt splina, ficatul şi plămînul. Proprietatea unor structuri mai simple de interferon de a se combina în forme mai complexe este, de asemenea, responsabilă de variaţia de greutate moleculară, ca şi natura factorului care induce producerea sa.

Primul interferon a fost descoperit prin faptul că lichidul din culturile celulare infectate cu virus proteja alte culturi sau chiar animalele de experienţă împotriva infecţiei virale. Deşi virusurile, în special mixovirusurile şi arborvirusurile, sînt puternici inductori ai producerii de interferon, s-a văzut că şi bacteriile, în special cele cu ciclu intracelular de dezvoltare (brucele, tularemie, listerii), rickettsiile, malaria şi alţi paraziţi intracelulari sînt inductori de interferon. Interferonul poate fi produs şi sub acţiunea unor substanţe ca exo- şi endotoxinele bacteriene, polizaharizii, fitohemaglutinina, unii polimeri, actinomicina şi chiar ARN. Capacitatea tuturor acestor substanţe de a induce formarea de interferon se datoreşte conţinutului în lanţuri duble de ARN. În mod natural, infecţia, producînd moartea celulei, eliberează ARN, care induce formarea interferonului în celulele învecinate.

Se pare că interferonul şi Ig se completează în acţiunea lor protectoare. Interferonul apare în sînge la cîteva ore după infecţie şi persistă cîteva zile. Cînd începe să scadă, apar anticorpii, ca şi cum producţia celor două substanţe ar fi reglată de un mecanism comun. Capacitatea interferonului de a acţiona asupra unui mare număr de virusuri îi atribuie interesante perspective terapeutice.

Cît priveşte mecanismul de formare, se pare că lanţul dublu de ARN conţinut de virusul ARN sau indus de virusul ADN, pătruns într-o celulă, inactivează un represor al formării interferonului, permiţînd unei gene operatoare să iniţieze sinteza şi eliberarea de interferon. Acesta pătrunde în celulele învecinate şi se combină cu un represor care reglează sinteza polipeptidelor virale. Inhibiţia acestui represor duce la formarea unei noi substanţe proteice, numită inhibitoare a translaţiei. Această substanţă împiedică transmiterea ARN mesager responsabil de sinteza proteinelor virale. Probabil proteina inhibitoare se produce şi în celula infectată, dar apare prea tîrziu ca să o mai poată salva de la morte.

Nu există specificitate a interferonului în funcţie de virusul inductor, dar activitatea lui este mai mare la membrii aceleiaşi specii, ceea ce presupune obţinerea, în scopuri terapeutice, de interferon uman.

S-a constatat că interferonul sau inductorii interferonului inhibă creşterea virusurilor oncogene în culturi de ţesuturi şi modifică evoluţia infecţiei virale oncogene. De asemenea, s-a demonstrat că acidul poliri-

Scanned with OKEN Scanner

bocitidilic (poli I : C), format dintr-un lanţ dublu de ARN, care este un bun inductor al formării de interferon, inhibă creşterea unei mari varietăţi de tumori experimentale (Levy şi Robson, 1968, 1969). Interferonul propriu-zis poate şi el inhiba creşterea unor tumori induse chimic.

Aceste rezultate ridică problema posibilităţii utilizării în viitor a interferonului sau a inductorilor săi în tratamentul cancerului uman. Momentan există dificultatea toxicităţii inductorilor, în special al poli I : C, care de multe ori este rapid hidrolizat de serul uman în componente inactive. Se caută alţi inductori de interferon, mai puţin toxici şi rezistenţi la acţiunea hidrolitică a serului. Pentru moment, capacitatea redusă a celulelor umane de a produce interferon în cultură face ca aplicarea terapeutică a interferonului să fie prea costisitoare.

C. REACŢII DE IMUNITATE CELULARĂ

Ca şi imunitatea de transplantare, imunitatea antitumorală este în cea mai mare parte rezultatul unor reacţii de natură celulară. Experimental se poate obţine o importantă scădere a rezistenţei faţă de proliferarea tumorală, ca şi o creştere a toleranţei faţă de transplante incompatibile, prin aplicarea de metode care deprimă electiv imunitatea mediată celular (timectomie neonatală, ser antilimfocitar, fistulă cronică de canal toracic). Desigur că anticorpii citotoxici sau complementul se asociază de multe ori spre a potenţa efectul limfocitelor T sau macrofagelor asupra transplantului sau tumorii, dar rolul lor este secundar în respingerea transplantelor sau regresiunea tumorilor. Uneori, însă, prin stabilirea de raporturi particulare între anticorpi şi limfocite, primele pot inhiba acţiunea citolitică a ultimelor prin fenomene de facilitare sau blocare.

Acţiunea limfocitelor asupra tumorilor din propriul organism poate fi pusă în evidenţă, *in vivo* ca şi *in vitro*, prin reacţii care exprimă *sensibilizarea* sau *proprietăţile citolitice* ale acestor celule.

1. FENOMENE DE IMUNITATE CELULARĂ IN VIVO

Eficienţa reacţiei limfocitelor *in vivo* este demonstrată de rezultatele obţinute experimental: întîrzierea apariţiei, regresiuni şi chiar vindecări ale tumorilor unor animale tratate cu limfocite izogenice provenite de la indivizi care eliminaseră tumoarea respectivă. Se justifică astfel aplicarea imunoterapiei adoptive, prin administrarea de limfocite sensibilizate specific provenite de la indivizi histocompatibili.

Studiul comportării imunocitelor faţă de tumoarea autoloagă poate fi realizat, *in vivo*, prin metoda *ferestrei cutante* imaginată de Black şi Leis (1970, 1971): pe pielea scarificată a antebraţului se aplică o lamelă cu o

Scanned with OKEN Scanner

secţiune din tumoarea autoloagă inactivată prin tratare cu alcool-eter. După 28—33 de ore se recoltează lamela, se colorează şi se examinează la microscop. Lucrînd pe paciente cu cancer mamar, autorii au individualizat mai multe tipuri citologice de reacţie, generate de ţesutul neoplazic, care nu se produc cînd se utilizează ţesut mamar fără modificări maligne. În ultimul caz are loc numai o redusă mobilizare de macrofage, limfocitele sînt foarte rare, ca şi celulele cu granulaţii bazofile. Exsudatul celular este mult mai bogat în cazul tumorii autoloage, în afară de macrofage întîlnindu-se numeroase limfocite, multe din ele transformate blastic, precum şi celule cu granulaţii bazofile. Din formula citologică a exsudatului se pot trage anumite concluzii despre eficienţa reacţiei imune antitumorale.

2. FENOMENE DE IMUNITATE CELULARĂ IN VITRO

Lucrările care demonstrează *in vitro* sensibilizarea limfocitelor faţă de tumoarea autoloagă şi uneori evidenta lor acţiune citolitică au meritul că sînt clare şi incontestabile. Deficienţa lor este că nu reproduc exact condiţiile din organism şi nu explică lipsa de eficienţă a reacţiei *in vivo*.

a. **Studii microscopice asupra interacţiunii dintre limfocite şi celulele tumorale autoloage.** În special Richters şi colab. (1964, 1971) au studiat comportarea limfocitelor pacienţilor cu cancer puse în contact, în culturi de ţesuturi, cu propriul ţesut tumoral. În afară de unele reacţii nespecifice, care se produc şi în prezenţa ţesutului normal, ţesutul tumoral induce migrarea limfocitelor şi producerea următoarelor aspecte: aglomerarea limfocitelor în jurul celulelor tumorale, trei sau mai multe limfocite ataşîndu-se unei celule tumorale prin prelungiri în formă de coadă; congregarea sau aderenţa limfocitelor pe suprafaţa celulelor, de obicei în dreptul aparatului Golgi; emperipoleza sau pătrunderea limfocitelor în interiorul celulelor tumorale, unde pot fi găsite la nivelul unor vacuole intracitoplasmatice. Aceste trei aspecte nu se găsesc în culturile de celule normale. Cu cît ele sînt mai pronunţate, cu atît reacţia organismului asupra tumorii pare să fie mai exprimată. Aspecte similare au fost descrise şi de alţi autori, în culturi de ţesuturi, congregarea dînd de multe ori aspectul unor limfocite care formează rozete în jurul celulelor tumorale. Am întîlnit de multe ori acest aspect în exsudatele neoplazice ale cavităţilor seroase.

b. **Modificări limfocitare induse de contactul cu celule tumorale autoloage.** Sensibilizarea specifică a limfocitelor faţă de propria tumoare poate fi demonstrată şi din aprecierea modificărilor acestor celule în contact cu celule tumorale autoloage, *in vitro*. În acest caz se induce o transformare blastică a limfocitelor semnificativ mai mare decît în cazul contactului cu celule tumorale heteroloage. Stejernswärd (1967, 1968) a

Scanned with OKEN Scanner

exprimat cantitativ această modificare prin măsurarea creşterii sintezei de ADN din limfocite pe baza încorporării de timidină marcată. Se calculează un indice rezultat din raportul dintre timidina încorporată în contact cu celule tumorale autoloage şi substanţa radioactivă încorporată de aceste celule în contact cu ţesut autolog normal. Un index mai mare de 1,5 subliniază o reacţie pozitivă. Este vorba de testul interacţiunii mixte limfocite-celule ţintă (*mixed-lymphocyte-target-interaction-test*).

c. **Limfokine produse în urma contactului limfocitelor cu celule sau antigeni tumorali.** Contactul limfocitelor cu antigenii celulelor tumorale, inducînd transformarea lor blastică, duce, de obicei, în cazul limfocitelor T la producerea de limfokine, a căror evidenţiere constituie de asemenea o dovadă a sensibilizării faţă de tumoare. Asupra acestui fenomen a insistat Mackler (1971).

În cancer s-a studiat în special *factorul de inhibiţie a migrării macrofagelor*. Roitt şi colab. (1969) subliniază importanţa fenomenului, producerea acestui factor ducînd la acumularea de macrofage, care, prin captarea antigenului tumoral şi interacţiunea lor cu limfocitele T, cresc numărul elementelor capabile să acţioneze asupra celulelor tumorii. Aspecte interesante ale raportului imunologic stabilit între tumori şi organism au fost evidenţiate prin această metodă de către Şandru (1975). Utilizîndu-se o tehnică originală cu fragmente de coagul sanguin, s-a demonstrat sensibilizarea pacientului faţă de propria sa tumoare; au fost folosite ca antigen omogenatele tumorale autoloage sau homoloage.

O tehnică interesantă de studiu a acestui factor este şi testul de migrare electroforetică a macrofagelor imaginat de Field şi Caspary (1970). Testul constă în întîrzierea migrării electroforetice a macrofagelor obţinute din peritoneul cobaiului de factorii produşi de limfocite, în contact cu antigenul tumoral; întîrzierea migrării este apreciată la citoferometru. În conformitate cu rezultatele autorilor, testul ar fi pozitiv la pacienţii cu cancer, indiferent de localizarea sau forma histologică a tumorii, folosindu-se ca antigen o proteină izolată din ţesutul cerebral, numită factor encefalitogen. Testul fiind pozitiv şi în cazuri de cancere oculte (într-un caz a fost pozitiv cu nouă ani înainte de apariţia clinică a unui cancer tiroidian), ar avea o valoare diagnostică. În ceea ce priveşte proprietăţile factorului encefalitogen utilizat ca antigen, el ar fi înrudit structural, fără a fi identic, cu structurile proteice din tumorile maligne. Interpretarea rezultatelor trebuie să ţină seama de posibilitatea unor rezultate pozitive în alte boli (tuberculoză evolutivă, sarcoidoză, reumatism, lupus, infecţii gripale, boli degenerative neurologice).

Halliday şi Millar (1972) au pus la punct o metodă rapidă, şi anume inhibiţia aderenţei leucocitare, care de asemenea poate fi utilizată în studii de imunitate antitumorală. Metoda se bazează pe faptul că, în timp ce limfocitele de la martori sau pacienţi cu cancer aderă de obicei de o suprafaţă

Scanned with OKEN Scanner

de sticlă, această aderență este inhibată numai pentru limfocitele canceroșilor de prezența unui extract de tumoare autoloagă sau de același tip histologic. Fenomenul s-ar datori tot eliberării unor limfokine asemănătoare factorilor de inhibiție a migrării.

Determinarea limfokinelor induse de antigenii tumorali constituie un interesant domeniu de cercetare în vederea punerii la punct a unor metode de diagnostic imunologic al cancerului.

d. **Acțiunea limfocitelor asupra celulelor tumorale autoloage.** Capacitatea limfocitelor din organisme animale sau umane de a distruge celulele tumorale proprii a fost demonstrată în culturi de țesuturi în special de cercetătorii suedezi de la Karolinska Institutet din Stockholm, ca și de alți cercetători, prin două categorii de tehnici. În *probele de inhibiție a coloniilor*, acțiunea nocivă a limfocitelor se traduce prin diminuarea capacității celulelor tumorale de a se divide și a forma colonii. *Probele de citotoxicitate* apreciază intensitatea distrugerii celulelor tumorale după expunerea lor pentru un timp determinat (36—120 de ore) la acțiunea limfocitelor. Cele două categorii de tehnici dau rezultate concordante. Ele au fost aplicate în cazul unor tumori experimentale, dar și al tumorilor umane.

Utilizarea acestor tehnici a demonstrat că limfocitele provenite de la animale cu evidentă rezistență antitumorală, exprimată prin capacitatea lor de a elimina transplante tumorale, sînt citotoxice și *in vitro* față de tumorile respective. Acest efect a fost demonstrat și în cazul unor tumori primare induse chimic și chiar în cazul unor tumori considerate cu antigenicitate redusă, cum sînt cele produse la șoarece de filme de plastic. În sfîrșit, efectul citotoxic al limfocitelor a fost demonstrat și în cazul unor cancere mamare spontane ale acestui animal.

S-a dovedit astfel că organismul purtător al unei tumori maligne este de multe ori capabil să recunoască antigenicitatea tumorii respective și să reacționeze imunologic împotriva ei. Există unele variații ale rezultatelor în funcție de tehnica utilizată. Astfel, unele tehnici de microtoxicitate demonstrează persistența acțiunii limfocitelor la mai multe luni după îndepărtarea tumorii. În testele rapide (de 4 ore), în care celulele tumorale sînt marcate cu Cr^{51} și la care acțiunea limfocitelor se măsoară cu precizie de concentrația izotopului eliberat din celulele lezate în lichidul de cultură, această acțiune apare maximă între 7 și 15 zile de la transplantare, după care poate să dispară.

Prin astfel de lucrări, Karl Erik și Ingegerd Hellström (1972) au arătat, de exemplu, că limfocitele obținute din ganglionii unor șoareci la care se îndepărtase un sarcom primitiv indus cu metilcolantren, exercită un efect inhibitor asupra celulelor tumorale respective, dar nu și asupra unor celule tumorale care nu prezentau reacții de imunitate încrucișată

Scanned with OKEN Scanner

(fig. 83). În general, acţiunea citotoxică a limfocitelor era similară, indiferent dacă proveneau din organisme în care tumoarea era în plină proliferare sau, dimpotrivă, fusese eliminată spontan sau chirurgical.

Rezultate asemănătoare au fost obţinute şi prin studiul pacienţilor cu cancer. Limfocitele acestor pacienţi prezintă acţiune citotoxică faţă de

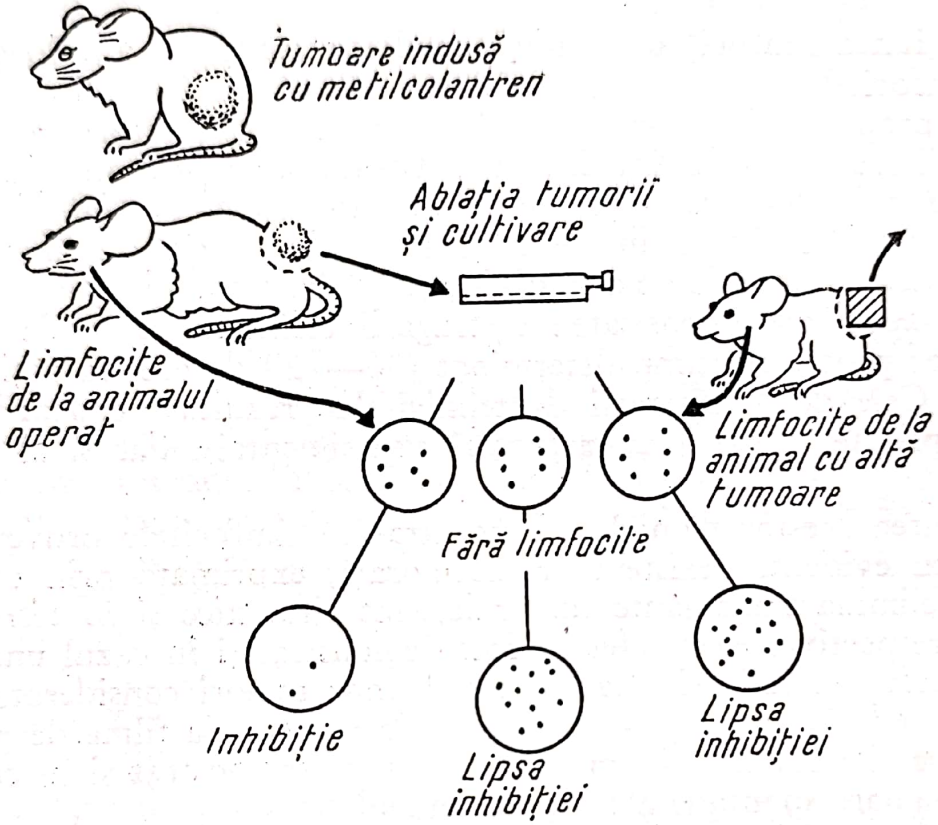


Fig. 83. — Demonstrarea eficienţei acţiunii limfocitelor faţă de tumoarea autoloagă (după Hellström şi Hellström, 1972).

celulele tumorale proprii, nu şi faţă de celulele proprii normale. La om s-au pus în evidenţă şi reacţii de imunitate încrucişată: de exemplu, limfocitele unui pacient cu cancer al colonului sînt citotoxice nu numai faţă de propria sa tumoare, ci şi faţă de tumorile cu aceeaşi localizare ale altor pacienţi. Reacţii de imunitate încrucişată au fost observate şi în cazul altor forme de tumori maligne, cum sînt neuroblastomul, melanomul, seminomul şi sarcomul, ca şi în carcinomul de colon, sîn, ovar, endometru, col uterin, rinichi, vezică sau tiroidă (fig. 84). Este interesant că este vorba mai ales de tumori umane cu antigenicitate dovedită sau care uneori involuează spontan. Aparent, distrugerea celulelor tumorale este rezultatul acţiunii citotoxice a limfocitelor T. În unele cazuri, distrugerea celulelor tumorale era precedată de aderenţa limfocitelor.

Scanned with OKEN Scanner

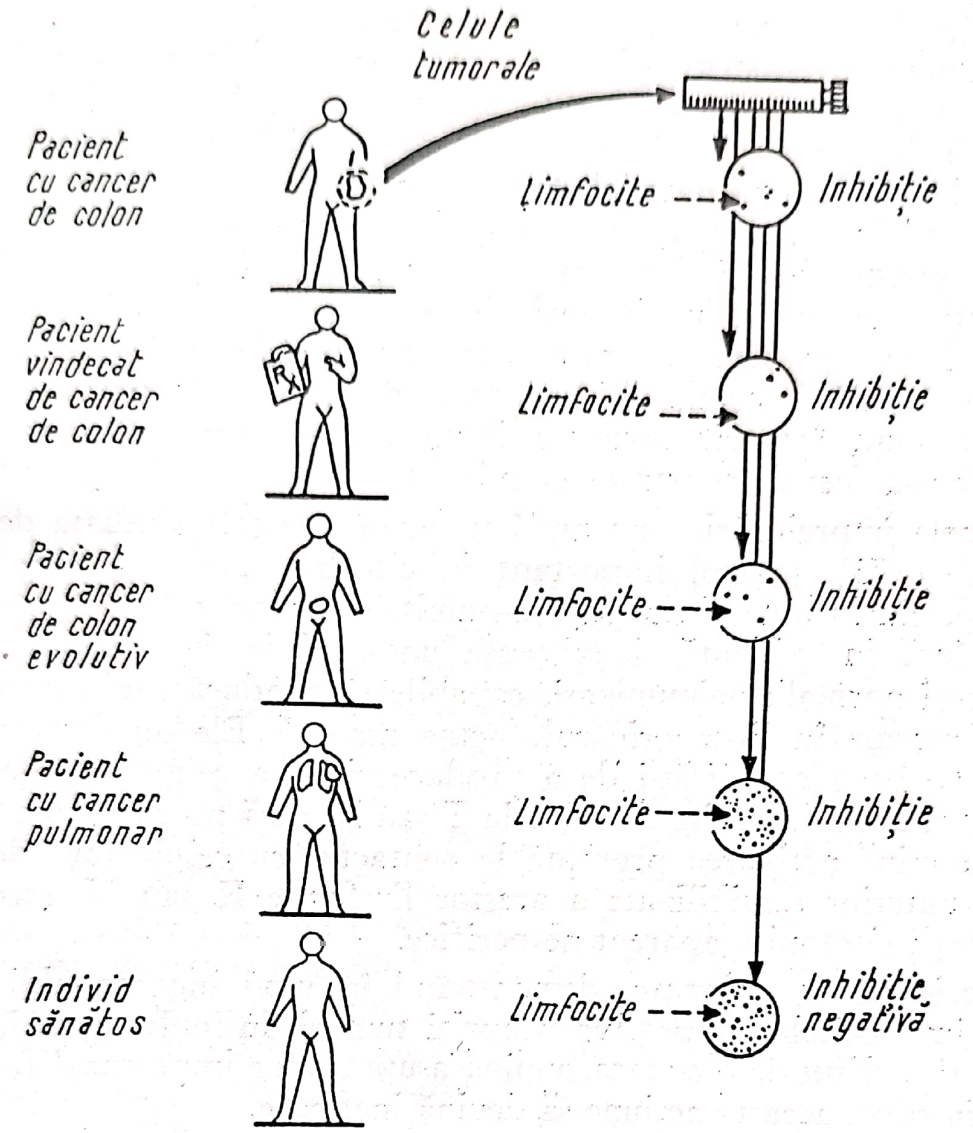


Fig. 84. — Demonstrarea eficienței acțiunii limfocitelor unui pacient cu cancer de colon față de celulele tumorale autoloage sau ale unor pacienți cu tumoare analoagă (după Hellström și Hellström, 1972).

Adelstein și colab. (1976) au studiat la microscopie în contrast de fază, ca și la microscopie electronică convențională și în relief (*scanning*), procesul de citoliză al celulelor carcinomului Walker în contact cu limfocite de la animale purtătoare ale acestei tumori. În prima fază, limfocitele aderă de membrana celulelor tumorale, după 30 de minute de la introducerea lor, prin intermediul unor multiple prelungiri citoplasmatice. Acest contact nu pare să producă efecte citotoxice (întrucît în acest interval nu apar modificări apreciabile ale celulelor tumorale), ci reprezintă probabil expresia recunoașterii unui antigen specific de către limfocite. La o oră după fixarea lor pe membrana celulelor tumorale, limfocitele încep să producă un material amorf, care provine atît din membrană, cît

Scanned with OKEN Scanner

și din citoplasmă, care aderă de suprafața celulelor tumorale sugerînd natura imună a fenomenului. Acest material este foarte asemănător microscopic imunoglobulinelor legate de membrana limfocitelor. În timpul producerii lui, unele limfocite prezintă modificări de citoliză. După 24—36 de ore, acest material (marcat cu feritină) este regăsit în citoplasma celulelor tumorale care prezintă fenomene degenerative (vacuolizare citoplasmatică și detașare de suprafața recipientului). Morfologic, prin conținutul lor redus în reticul endoplasmatic rugos și prelungirile lor citoplasmatice scurte, limfocitele responsabile de lezarea celulelor tumorale par să fie celule T. Aceasta pune în discuție natura produsului amorf secretat, întrucît prezența imunoglobulinelor pe suprafața acestor celule n-a fost demonstrată convingător.

În unele împrejurări, cum ar fi tumorile vezicale studiate de O'Toole și colab. (1973), un rol important în citoliză revine și unor limfocite diferite de limfocitele T sau B, așa-numitele limfocite K. În unele situații s-a pus însă în evidență și existența unor celule limfoide provenite de la donatori normali, neimunizați, capabile să producă rapid citoliza unor celule tumorale în lipsa oricărui factor umoral. Ele au fost studiate la șoarece, pe baza capacității de a produce citoliza celulelor leucemice tip Moloney și apar deosebite de celulele T sau B. Încă nu se cunosc condițiile care determină activarea promptă la contactul cu celule față de care nu fuseseră anterior sensibilizate a acestor limfocite K sau N, mediatori ai unor reacții citotoxice aparent nespecifice.

Experiențele menționate, demonstrînd în mod incontestabil eficiența acțiunii imunocitelor împotriva propriei tumori, în multe cazuri, *in vitro*, au avut și meritul de a arunca lumină asupra unor importanți factori care fac, ca *in vivo*, această acțiune să devină ineficace.

D. CAUZE ALE INEFICACITĂȚII REACȚIEI ANTITUMORALE

Numeroși cercetători au fost preocupați de contradicția dintre eficacitatea reală a reacțiilor imune antitumorale, *in vitro*, și ineficacitatea acestor reacții *in vivo*. Cum era și rațional, fenomenul a fost pus pe seama unor circumstanțe speciale în care decurge răspunsul imun împotriva tumorii, circumstanțe derivate din raporturi speciale, care se pot stabili între diferitele elemente participante la reacție.

În 1949, Burnet și Fenner au arătat că în anumite condiții, o stimulare antigenică poate să inducă, în loc de reacție imună, o stare specifică de lipsă de reactivitate, numită *toleranță imunologică*. Spre deosebire de stările de *imunosupresie* sau *imunodepresie*, în care reacția imună a unui organism la orice antigen este suprimată sau diminuată, imunotoleranța

Scanned with OKEN Scanner

presupune lipsa de reactivitate față de un anumit antigen. Ea include *paralizia imunologică*.

Toleranța imunologică poate fi indusă prin inocularea unui antigen înainte de naștere, fiind, după Burnet, baza fenomenului de autorecunoaștere imună. La adult poate fi obținută prin administrarea de *doze foarte mici sau foarte mari de antigen*. Dozele mici de antigen induc toleranța limfocitelor T (fenomen important în geneza cancerului și în caracterul imunității antitumorale), în timp ce dozele mari acționează asupra ambelor categorii de limfocite. Un antigen este cu atît mai tolerogen cu cît este mai solubil, avînd perspective să reacționeze direct, și nu prin intermediul macrofagelor cu limfocitele. De aici rezultă presupunerea că toleranța se induce prin evitarea macrofagelor de către antigene.

Pe de altă parte, reacția organismului față de un antigen nu se traduce întotdeauna printr-o stare de rezistență sau imunitate propriu-zisă, mai ales în cazul cînd antigenul este de altă natură decît cel microbian. În astfel de cazuri, reacțiile celulare și umorale determinate de antigenul respectiv pot să dăuneze uneori organismului. Se utilizează termenul *sensibilizare* pentru a desemna situațiile în care contactul organismului cu antigenul nu determină reacția obișnuită de imunizare. Anumite condiții pot favoriza producerea unor astfel de reacții; de exemplu, cantitatea mică de antigen duce implicit la producerea unor cantități mici de anticorpi (împrejurare care se regăsește în cazul tumorilor maligne).

Reacția neobișnuită, de obicei dăunătoare organismului, care se produce în astfel de situații, se numește *alergie* sau *hipersensibilitate*. Cei doi termeni nu sînt întrutotul sinonimi, alergia sau reacția modificată la un anumit antigen putînd include, pe lîngă reacții de hipersensibilitate, reacții diminuate (hiposensibilitate). Se numește anergie lipsa de reacție la un anumit antigen.

Natura imună a reacțiilor alergice sau de hipersensibilitate este demonstrată și de analogia dintre condițiile de producere: ca și pentru inducerea unei reacții imune, trebuie să treacă 5—10 zile de la expunerea organismului la antigen, înainte de apariția stării de hipersensibilitate. În funcție de intereferența care se produce între elementele participante la reacția imună (antigene, imunocite, anticorpi, complement), reacțiile de hipersensibilitate pot îmbrăca aspecte diferite, pe care Gell și Coombs (1968) le-au clasficat în patru tipuri:

Tipul I — anafilactic, caracterizat prin producerea de Ig, care prin porțiunea Fc se atașează de suprafața mastocitelor sau granulocitelor bazofile. Contactul cu antigenul determină permeabilizarea membranei acestor celule cu eliberarea de substanțe în genul histaminei și serotoninei, care acționează asupra țesuturilor, în special asupra musculaturii netede, determinînd simptomele reacției anafilactice. Termenul de citotrofic atribuit acestor anticorpi de natură IgE subliniază afinitatea lor pentru celule.

Scanned with OKEN Scanner

Tipul II — citotoxic, este produs de anticorpi care se fixează pe suprafaţa celulelor ţintă producînd liza lor prin fagocitoză sau activarea complementului. Reprezintă substratul reacţiilor de transfuzie sanguină incompatibilă.

Tipul III — complex, se caracterizează prin formarea de complexe antigen-anticorp, ceea ce duce la activarea sistemului complementar şi a factorului Hageman. Activarea complementului determină eliberarea de anafilotoxine, prin desfacerea porţiunilor C_3 şi C_5, care produc histamină şi tulburări de permeabilitate vasculară. Se produc totodată şi factori chemotactici; aceştia induc un aflux de leucocite polinucleare care fagocitează complexele antigen-anticorp şi eliberează enzime proteolitice cu efect asupra ţesuturilor. Alte leziuni tisulare sînt produse sub acţiunea întregului sistem complementar activat. Activarea factorului Hageman (al XII-lea factor al coagulării sau activatorul prokininogenazei) antrenează sistemul de kinine spre a forma alţi mediatori ai inflamaţiei acute; kininele rezultate sînt compuşi peptidici sau poliaminici formaţi din precursori plasmatici cu acţiune vasodilatatoare şi miotropă. În sfîrşit, în anumite condiţii se produce aglutinarea trombocitelor cu eliberare de alte amine vasoactive şi producere de microtrombi. Exemplul tipic de astfel de reacţie este fenomenul Arthus, reacţia dermică congestivă-necrotică care se produce la 6—8 ore după inocularea antigenului. Unele autolize tumorale sînt puse pe seama acestui fenomen. Reacţia complexă descrisă este condiţionată de proporţia dintre antigen şi anticorp. Excesul de anticorpi produce o reacţie localizată, excesul de antigen duce la o reacţie mai mult sau mai puţin generalizată.

Tipul IV — celular, se bazează pe acţiunea limfocitelor T asupra antigenului, direct sau prin intermediul unor kinine. Eliminarea transplantelor, reacţiile grefă-contra-receptor şi intradermoreacţiile tardive reprezintă exemple de astfel de reacţii.

La aceste patru tipuri, Roitt (1971) adaugă tipul V — stimulator, în care anticorpi nefixatori de complement stimulează celula purtătoare de antigeni specifici. Asemenea reacţii ar interveni în fenomenul de facilitare.

Primele trei tipuri de reacţie, dependente de anticorpi, sînt numite de tip imediat (ele fiind, după Roitt, mai mult sau mai puţin imediate). Al patrulea tip, necesitînd afluxul limfocitelor, se produce mai tîrziu şi este de tip tardiv.

În general, o solicitare antigenică poate induce o reacţie celulară, umorală sau mixtă. În unele condiţii, administrarea unui antigen care induce o reacţie umorală poate suprima reacţia de tip celular, fenomenele de hipersensibilitate întîrziată; fenomenul constituie aşa-numita *imunodeviaţie*.

Scanned with OKEN Scanner

1. DEPRIMAREA IMUNOLOGICĂ A PACIENȚILOR CU CANCER

După cum am menționat anterior, Chester M. Southam (1957, 1961, 1968, 1975) a stăruit în mod deosebit asupra faptului că la pacienți cu forme avansate, metastazante de cancer se întîlnește o importantă diminuare a capacității de reacție imună a organismului, în special a reacțiilor imune mediate celular, în contrast cu martorii sau cu pacienții purtători ai unor tumori maligne incipiente, localizate. Această situație se întîlnește în cazul *cancerului nelimfomatos*, cum numește el tumorile canceroase sau sarcomatoase obișnuite (care constituie de fapt majoritatea tumorilor maligne), în opoziție cu tumorile maligne ale organelor limfoide *cancerele limfomatoase*, în care această depresie imunologică se constată încă din primele faze ale bolii.

După Southam și colab. ca și după alți cercetători, principalele aspecte ale acestei depresiuni imunologice sînt următoarele (tabelul VII):

Tabelul VII

Statusul imun al pacienților cu cancer

	Limfoame maligne	Carcinoame și sarcoame
Nivelul imunoglobulinelor	↓, N, uneori ↑↑	N
Reacția cu anticorpi	↓ sau ↑↑	N
Nivelul complementului	N, rar ↓ sau ↑↑	N
Sistemul properdinic	adesea ↓↓	adesea ↓↓
Reacții cutanate de hipersensibilitate întîrziată	adesea ↓↓	adesea ↓ sau ↓↓
Eliminarea homografelor	↓, adesea ↓↓	↓, uneori ↓↓
Activitatea fagocitară a SRE	↑↑	↑↑
Limfocite circulante	N, ↑ sau ↑↑	N sau ↓
Mobilizarea macrofagelor (Rebuck)	↓	↓

N = normal
↓ = scăzut
↑ = crescut

după Chester M. Southam, 1974

a) **Alterarea capacității de respingere a homotransplantelor de țesut normal sau tumoral.** Principala observație a lui Southam (1957) a fost că la mulți pacienți cu cancer, alterarea capacității de reacție imună se traduce în special printr-o lipsă de reacție față de celule histoincompatibile și printr-o întîrziere a respingerii homotransplantelor.

S-au utilizat mai multe metode. Homotransplantele de țesut normal (amnios, fibroblaste) prezentau dezavantajul că nu aveau un potențial de creștere suficient spre a produce noduli detectabili. S-au utilizat atunci

Scanned with OKEN Scanner

linii de celule canceroase cum sînt HEp2 şi HEp3 (carcinom pavimentos) sau RPMI-41 (sarcom osteogen). Acestea produceau la voluntari sănătoşi apariţia unor noduli subcutanaţi palpabili, care în 12—14 zile creşteau pînă la 2—5 cm şi regresau apoi rapid, indicînd capacitatea organismului sănătos de a respinge cu promptitudine homografele de celule neoplazice. Acest rezultat s-a obţinut la 164 de persoane sănătoase, 19 pacienţi cu boli debilitante netumorale şi la pacienţi cu cancer localizat sau vindecat. În schimb, la 31% din cei 195 de pacienţi cu cancer avansat, regresiunea nodulilor s-a produs la mai mult de 6 săptămîni după transplantare. 42% dintre aceşti pacienţi au eliminat transplantul în condiţii identice cu martorii. Dacă unii din aceşti pacienţi fuseseră supuşi radioterapiei sau chimioterapiei, mulţi dintre cei cercetaţi nu primiseră un astfel de tratament, aşa încît cel puţin la o parte din ei depresia imunologică trebuie pusă direct pe seama existenţei tumorii maligne (tabelul VIII).

Tabelul VIII

Eliminarea transplantelor de celule canceroase umane la pacienţi cu cancer, pacienţi cu boli netumorale şi persoane sănătoase

	Martori sănătoşi	Pacienţi cu cancer	Pacienţi cu limfom	Pacienţi fără cancer
Eliminare promptă	164	81 (42%)	0	19
Uşor întîrziată	0	53 (27%)	1	0
Net întîrziată	0	30 (1 %)	1	0
Mult întîrziată	0	31 (16%)	1	0

(după Southam şi colab., 1957)

Rezultatele obţinute prin transplantare de ţesut tumoral de la un pacient la altul au fost mai puţin concludente (Southam, Brunschwig, Levin, Dizon, 1966). În general, transplantele au fost eliminate cu promptitudine, cu excepţia unor pacienţi care fuseseră supuşi unei terapii cu potenţial imunodepresiv. Studiile asemănătoare ale lui Grace şi Kondo (1958) pe 20 de pacienţi cu cancer, grefaţi direct cu ţesut tumoral de la alt pacient, au arătat o respingere întîrziată la unii din ei, dar toţi au eliminat aceste transplante în acelaşi timp sau chiar mai curînd decît transplantele de piele normală.

Mai multe grupuri de cercetători au studiat comportarea transplantelor de piele normală. Gardner şi Preston (1962) au constatat o întîrziere a eliminării acestor transplante la pacienţi cu forme avansate de cancer. Eliminarea s-a făcut în general cam la 23 de zile, la unii chiar după 30—50 de zile, spre deosebire de pacienţii cu ciroză, care eliminau trans-

plantul în medie în 17 zile sau de pacienţii cu alte boli, la care transplantele erau eliminate în 12 zile. Reacţia inflamatorie la pacienţii cu cancer era mult mai redusă.

Robinson şi colab. (1965) au constatat, de asemenea, că 6 din 25 de pacienţi cu cancer, au respins transplantul de piele în 28—35 de zile, faţă de restul bolnavilor, care le respinseseră în 6—18 zile. Este interesant că transplantele de piele normală de la pacienţi cu cancer au fost în general eliminate mai lent (12—28 de zile la cei cu respingere rapidă, 26—55 de zile la cei cu respingere lentă), amintind sugestia lui Amos asupra unei scăderi a antigenicităţii de histocompatibilitate la pacienţi cu cancer. Timpul de eliminare a homotransplantelor de piele normală a fost utilizat şi pentru studiul efectului imunodepresor al chimioterapiei (Levin şi colab., 1964; Gorgun şi Watne, 1966).

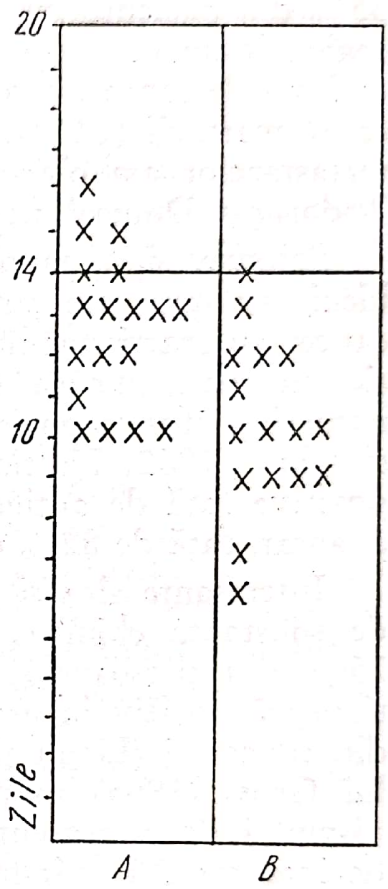


Fig. 85. — Timpul de eliminare a homografelor de piele la pacienţi cu cancer metastatic (A) şi nemetastatic (B) (după Ionel Suceava).

Studiind timpul de eliminare a transplantelor de piele normală la pacienţi cu tumori faringolaringiene, Ionel Suceava (1975) a găsit, de asemenea, o tendinţă a pacienţilor cu metastaze de a elimina cu întîrziere homotransplantul (fig. 85).

b. **Testul de transfer al limfocitelor.** Testul de transfer al limfocitelor constă în inocularea de limfocite de la un donator în pielea unui receptor. Intensitatea reacţiei obţinute (eritem, induraţie) exprimă gradul de histocompatibilitate (testul Brent-Medawar). Este un model interesant de reacţie concomitentă grefă-contra-receptor şi receptor-contra-grefă. Nu s-au obţinut rezultate concludente cînd s-au transferat la bolnavi cu cancer limfocite provenind de la indivizi sănătoşi (Levin, Miller şi Southam, 1968; Hattler şi Amos, 1965). Trebuie reţinut însă faptul, că atunci cînd s-au inoculat limfocite provenind de la pacienţi cu cancer, s-a produs o reacţie mai mică. Aceasta sugerează o scădere a capacităţii funcţionale a limfocitelor acestor pacienţi sau o scădere a antigenicităţii lor, în sensul celor afirmate de Amos (1965) în legătură cu diminuarea histoincompatibilităţii ţesuturilor bolnavilor de cancer.

c. **Reacţii de hipersensibilitate întîrziată.** Întrucît reacţiile de hipersensibilitate întîrziată sînt expresia caracteristică a imunităţii de tip celu-

lar, ele au fost de asemenea investigate la pacienţi cu cancer. Aceste studii au demonstrat alterarea capacităţii de producere a reacţiilor de hipersensibilitate întîrziată la pacienţii cu forme avansate de cancer.

De obicei se studiază reacţia la tuberculină. În observaţiile lui Levin şi Southam (1964), numai 24% din pacienţii cu cancer prezentau această reacţie pozitivă, faţă de 72% din pacienţii cu alte boli decît cancerul şi tuberculoza. Există şi studii mai puţin concludente (Logan, 1956; Fairley şi Matthias, 1960). Hughes şi Mackay (1965) găsesc însă un raport direct între extensiunea bolii şi tendinţa de dispariţie a reacţiei. Numai 35% din pacienţii cu metastaze generalizate şi 47% din cei cu metastaze regionale au prezentat o reacţie pozitivă, în contrast cu cei cu forme localizate de cancer, care au reacţionat pozitiv în 75% din cazuri, aproape ca şi martorii (81%). Aceeaşi corelaţie în funcţie de prezenţa şi lipsa metastazelor am observat-o şi noi (Chiricuţă, Simu, Mureşian, Cornelia Todoruţiu, Doina Ionescu, 1972).

Solowey şi Rapaport (1965) au folosit o baterie de 5 antigeni microbieni, printre care streptokinaza-streptodornaza. 73% din pacienţii cu cancer au reacţionat negativ, faţă de 24% din martori. Intensitatea reacţiei era, de asemenea, diminuată la pacienţii cu cancer. Rezultate asemănătoare au fost raportate şi de alţi autori, utilizînd baterii de teste (Lamb şi colab., 1962; Hattler şi Amos, 1965). Rogan (1956) a obţinut reacţii pozitive faţă de antigenul urlian numai la 29% din pacienţii cu cancer avansat, faţă de 82% din cei cu cancer incipient.

Interesante sînt şi reacţiile de hipersensibilitate întîrziată induse faţă de substanţe chimice, în special faţă de dinitrofluorobenzen (DNFB): 75% din persoanele sănătoase sau pacienţii fără boli tumorale reacţionează pozitiv în urma sensibilizării la această substanţă, faţă de 23% din canceroşi (Levin şi Southam, 1964). Aceasta coincide cu observaţiile lui Gross (1965) asupra unei diminuări progresive a capacităţii organismului de a prezenta reacţii pozitive la această substanţă, în funcţie de înaintarea în vîrstă şi creşterea incidenţei cancerului. O strînsă legătură între modalitatea de reacţie faţă de dinitroclorbenzen (DNCB) şi evoluţia tumorii a fost constatată de Eilber şi colab. (1975), şi anume între pozitivitatea reacţiei şi o bună evoluţie postoperatorie.

d. Alterarea capacităţii funcţionale a limfocitelor. Dintre probele care evidenţiază capacitatea funcţională a limfocitelor, s-a studiat în special *indexul de transformare blastică* al acestor celule în culturi stimulate cu PHA. Robinson şi Haurowitz (1966) nu au găsit diferenţe între pacienţii cu cancer şi indivizii normali, dar ei nu au apreciat stadiul clinic al bolii. Mac Carthy şi colab. (1966), Silk (1967) sau Saumon şi colab. (1968) găsesc totuşi scăderea acestui indice la pacienţii cu cancer. Fenomenul s-ar datori, după Mac Carthy sau Silk, prezenţei unui factor inhibitor în plasma pacienţilor cu cancer.

Scanned with OKEN Scanner

Mai recent, s-a constatat o scădere a numărului limfocitelor T la pacienţii cu tumori maligne, în special metastazante, apreciat în funcţie de capacitatea acestor limfocite de a *forma spontan rozete* cu eritrocite heterogene (Wyburn şi Fudenberg, 1971, 1974). Metoda a servit şi la punerea în evidenţă a unei persistente diminuări a numărului limfocitelor T, mai ales dacă s-a aplicat radioterapie (Tarpley şi colab., 1975). Astfel de lucrări i-au determinat pe Stjernswärd şi colab. (1972) să propună renunţarea la radioterapia postchirurgicală a tumorilor mamare, aplicarea acestei metode producînd o creştere a incidenţei metastazelor la paciente în primele stadii de boală.

La pacienţi cu carcinom bronhopulmonar s-a constatat că limfocitele T (apreciate în funcţie de capacitatea lor spontană de imunoaderenţă) sînt deja scăzute faţă de martori încă din faza localizată a tumorii. Această pauperizare în limfocite T se acecentuează, pe măsură ce tumoarea evoluează, cu excepţia formelor histologice adenocarcinomatoase. În acelaşi sens, pacienţii vindecaţi de forme pavimentoase de cancer bronhopulmonar prezintă în continuare limfocite T scăzute, spre deosebire de pacienţii care s-au vindecat de forme glandulare, care prezintă valori normale. O diminuare substanţială a limfocitelor T precede cu 2—3 luni apariţia clinică a metastazelor, după cum tendinţa de revenire la normal indică un bun prognostic. Concentraţia limfocitelor T ar exprima deci extensiunea tumorii, permiţînd aprecieri prognostice şi chiar selecţionarea metodelor terapeutice (Lee Dellon şi colab., 1975). Administrarea de timozină, hormon timic preparat de Goldstein, cu acţiune stimulantă asupra imunităţii celulare, a fost urmată de o evidentă creştere a numărului limfocitelor T la pacienţi cu cancer (Sakai şi colab., 1975). Aceste rezultate coincid cu cele obţinute experimental pe animale purtătoare de tumori, de către Maria-Sena Crivii şi Toma (1975), care au utilizat timosterina, hormon timic cu structură predominant lipidică, preparat de Şt.-M. Milcu şi Isabela Potop.

Împreună cu Monica Crişan şi Titus Mureşian (1975) am studiat această problemă la paciente cu cancer mamar. Diferenţe semnificative s-au constatat în special între martori şi pacientele cu metastaze viscerale, în timp ce la pacientele fără metastaze sau cu metastaze ganglionare şi osoase, diferenţele erau mai puţin semnificative. Radioterapia produce de fapt o scădere semnificativă a numărului limfocitelor T, în orice stadiu al bolii (fig. 86, 87, 88).

e. **Capacitatea de mobilizare a macrofagelor.** Răspunsul celular la un stimul nespecific a fost studiat de Dizon şi Southam (1963) sau Southam şi Levine (1966) prin tehnica ferestrei cutanate imaginată de Rebuck. Pe pielea excoriată a antebraţului se aplică o lamelă, care se schimbă la diferite intervale. După colorare, se determină formula cito-

Scanned with OKEN Scanner

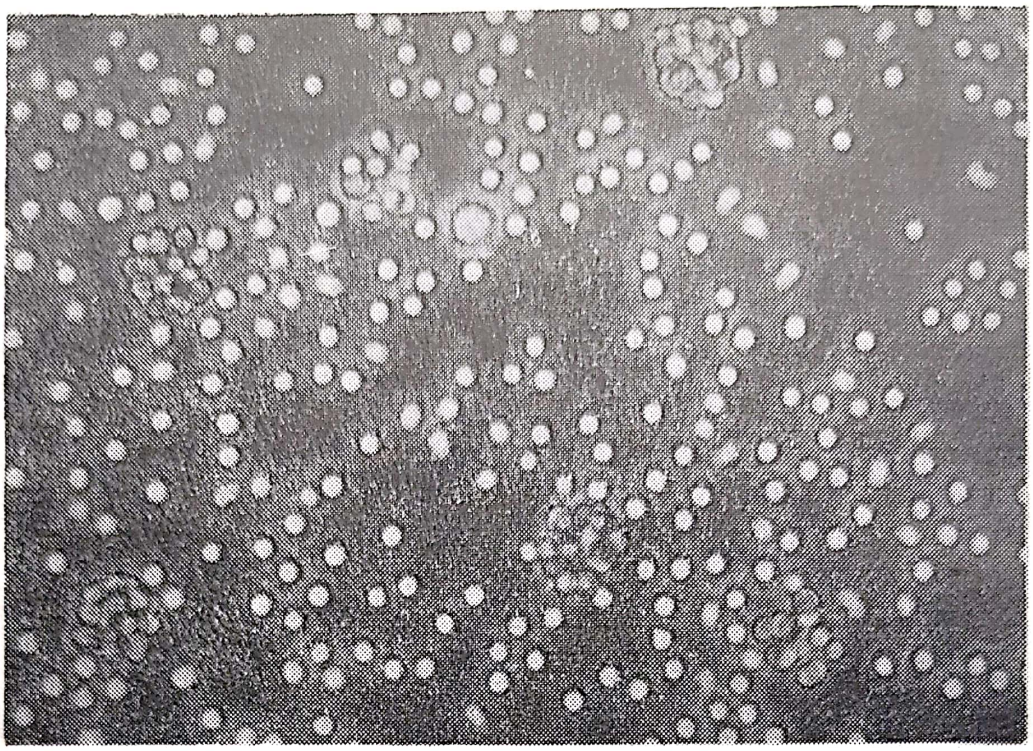


Fig. 86. — Imunoaderenţa spontană a limfocitelor cu eritrocite de oaie la pacienţi cu cancer nemetastatic. Imagine în contrast de fază (după Monica Crișan, 1975).

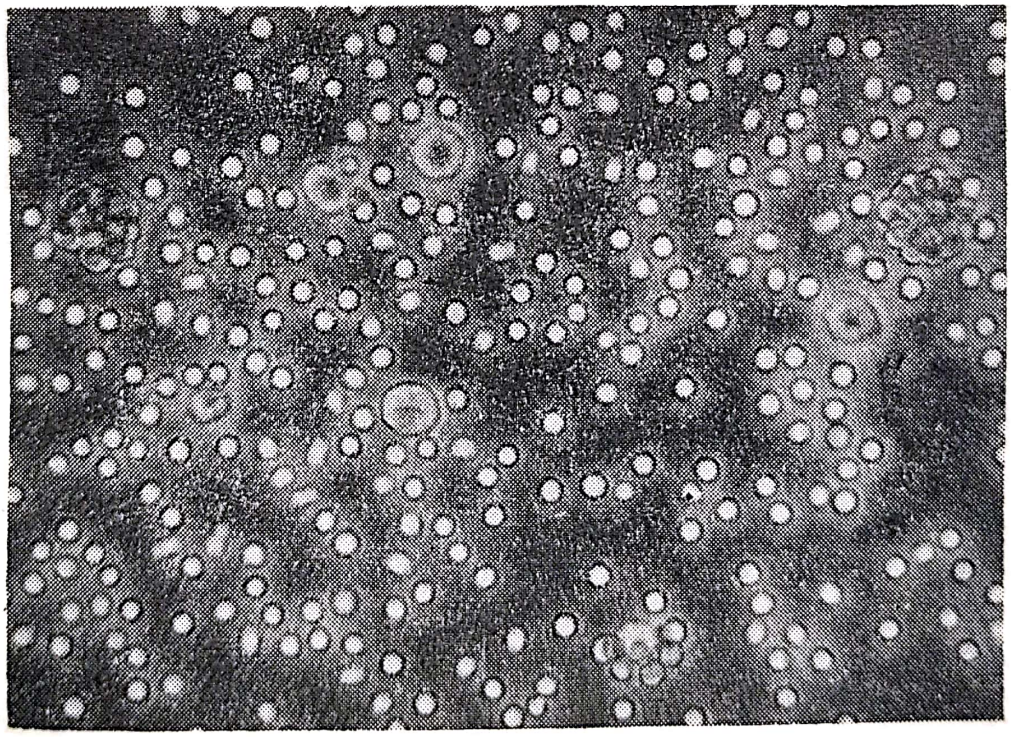


Fig. 87. — Imunoaderenţa spontană diminuată a limfocitelor pacienţilor cu cancer metastatic. Imagine în contrast de fază (după Monica Crișan, 1975).

Scanned with OKEN Scanner

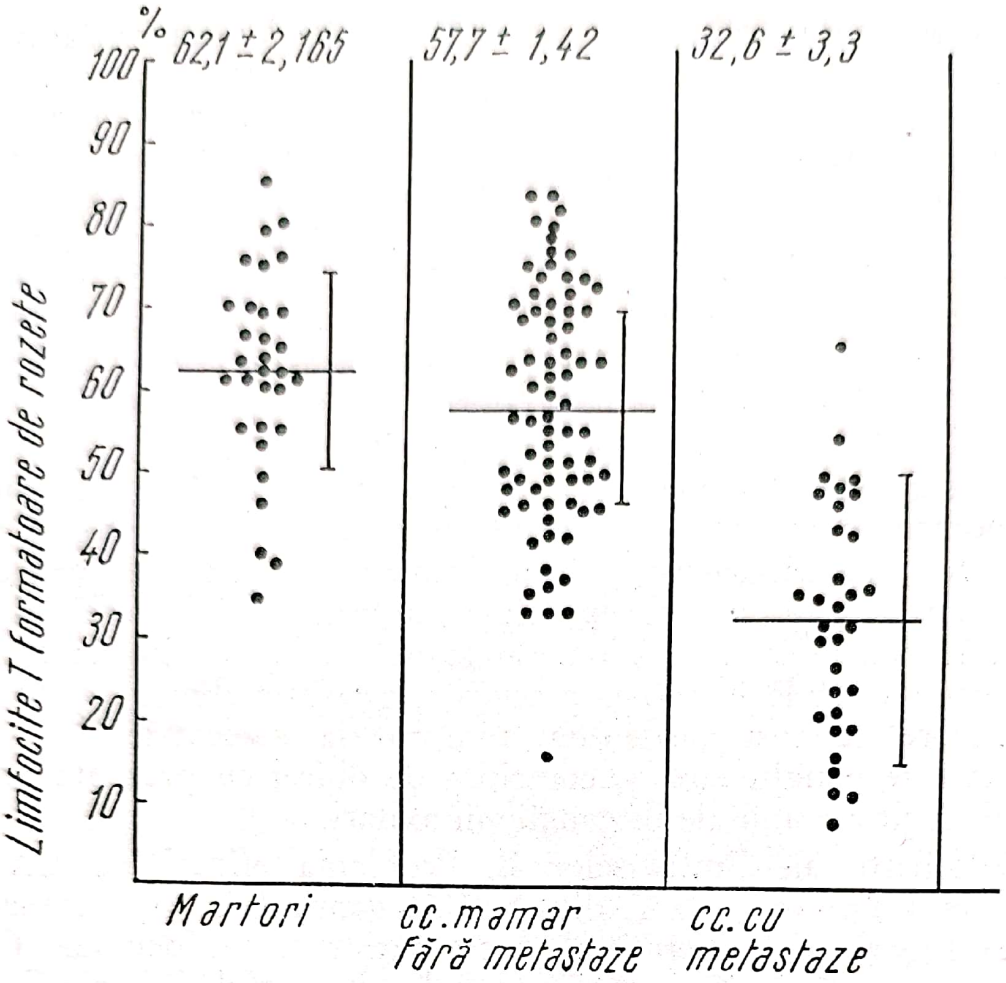


Fig. 88. — Limfocitele T la paciente cu cancer mamar (după Monica Crișan, 1975).

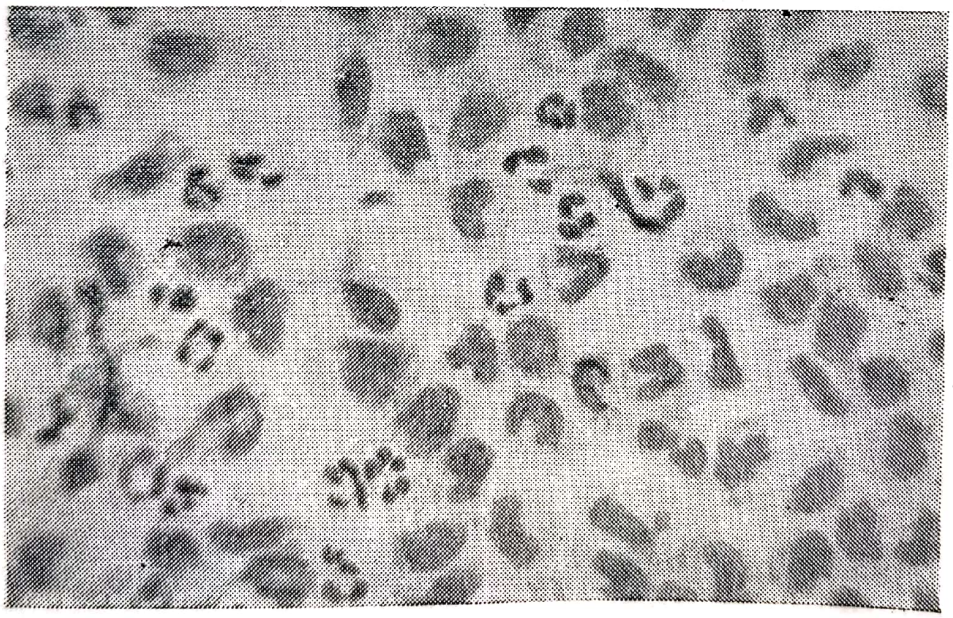


Fig. 89. — Formula citologică a reacției inflamatorii la pacienți cu forme incipiente de cancer: după 24 de ore, în exsudatul inflamator predomină macrofagele (tehnica ferestrei cutanate Rebuck-Crowley varianta Dizon-Southam). Col. Sabrazès.

Scanned with OKEN Scanner

logică a exsudatului indus prin această metodă. Colectarea acestui exsudat permite și aprecieri cantitative. Spre deosebire de persoanele sănătoase sau de pacienții cu forme incipiente de cancer, la care după 24 de ore exsudatul inflamator este predominat de macrofage (fig. 89), la pacienții cu forme avansate de cancer formula citologică este dominată în continuare, ca și în primele 24 de ore, de leucocite polinucleare (fig. 90), demonstrînd o alterare a capacității de mobilizare a macrofagelor.

Aplicînd această metodă, am obținut rezultate care arată de fapt o alterare a capacității de mobilizare a macrofagelor la pacienții cu forme avansate, metastazante de cancer, în raport cu cei cu cancere incipiente (cancere de buză sau cutanate) sau martorii sănătoși (fig. 91).

După cum s-a mai menționat, Black și Leis (1970, 1971) au studiat acest fenomen în raport de prezența țesutului tumoral autolog. Ei apreciază capacitatea de reacție a organismului în funcție de tipul de celule mononucleare, de procentul de celule cu granulații bazofile și de asociația dintre bazofile și conglomeratele de celule mononucleare. Un număr ridicat de celule bazofile, precum și asociația dintre aceste celule și mononucleare au fost găsite mai frecvent la pacientele din stadiul I, fără metastaze ganglionare, și coincidea de obicei cu prezența unei apreciabile histiocitoze sinusale în ganglionii axilari.

f. **Deficiențe ale limfocitelor B.** Problema eficacității anticorpilor în imunitatea tumorală va fi discutată în continuare. În legătură cu capacitatea funcțională alterată a macrofagelor și limfocitelor T, trebuie menționate aspecte similare ale limfocitelor B. Astfel, Stjernswärd (1968) a pus în evidență la pacienți cu cancer o capacitate redusă a acestor celule de a produce *in vitro* plăci de hemoliză (după tehnica lui Jerne, care permite aprecierea numărului celulelor secretoare de anticorpi).

Ting și Terasaki (1974) au pus, de asemenea, în evidență o capacitate diminuată a limfocitelor, presupuse a fi celule B, de a ucide celule țintă standard (limfocite de persoane sănătoase), tratate în prealabil cu anticorpi specifici. Limfocitele provenite de la 44 de pacienți cu cancer au prezentat diminuarea semnificativă a acestei capacități, în comparație cu limfocitele provenite de la persoane normale, femei multipare și pacienți cu alte boli. Pacienții în stadii avansate prezentau o depresiune mai accentuată.

În *concluzie,* așa cum arată toate rezultatele expuse, într-o anumită fază a bolii canceroase apare o importantă depresiune a imunității în special a reacțiilor de imunitate celulară (alterarea capacității de eliminare a homotransplantelor, dispariția unor reacții de hipersensibilitate întîrziată, diminuarea capacității funcționale a limfocitelor, întîrzierea mobilizării macrofagelor în cursul reacțiilor inflamatorii). Coincidența acestor modificări cu apariția metastazelor sugerează existența unui raport între cele două fenomene: este posibil ca metastazarea, care im-

Scanned with OKEN Scanner

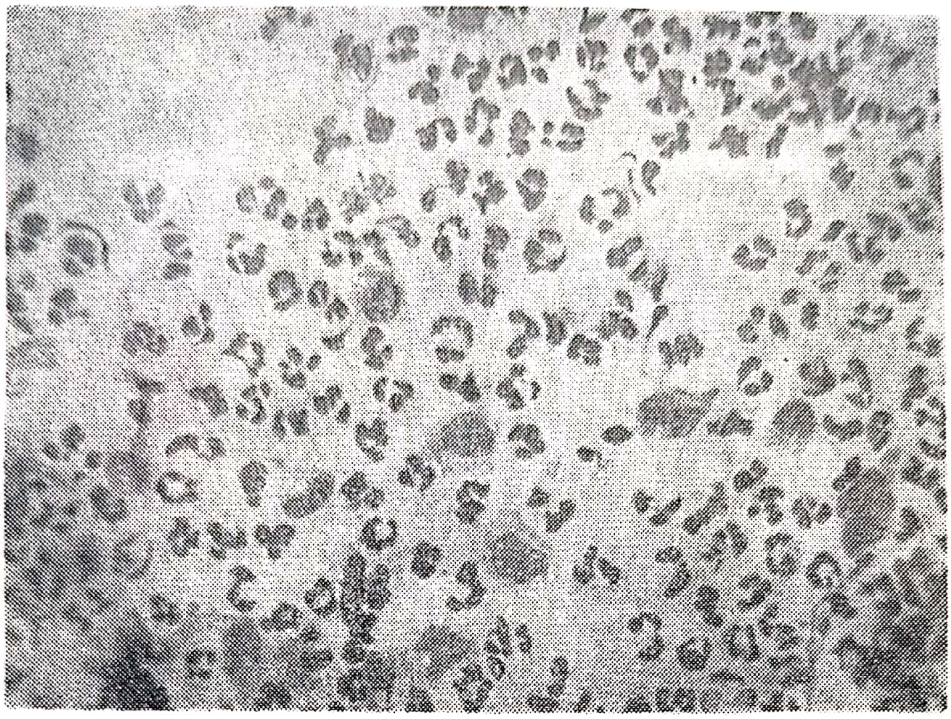


Fig. 90. — Formula citologică a reacţiei inflamatorii la pacienţi cu forme metastatice de cancer: după 24 de ore în exsudatul inflamator continuă să predomine leucocitele polinucleare. Col. Sabrazès.

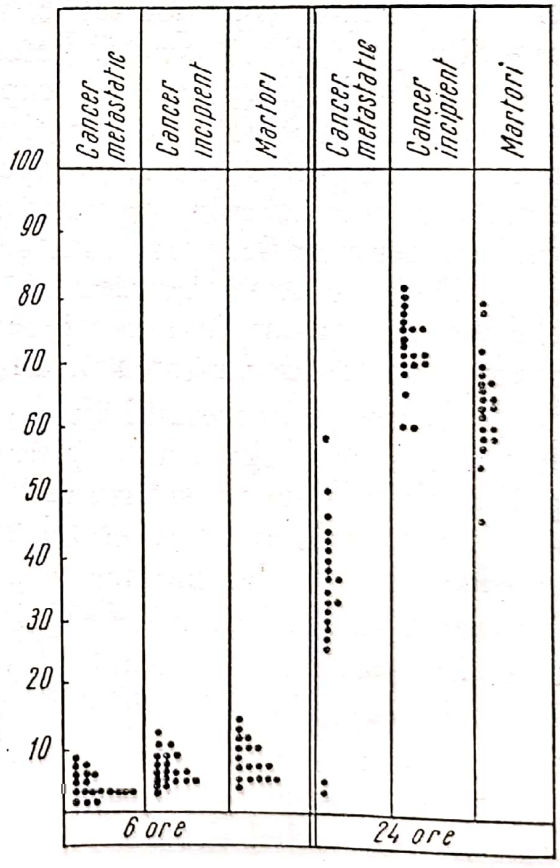


Fig. 91. — Procentul macrofagelor în exsudatul indus prin excoriaţia tegumentelor la pacienţi cu forme incipiente şi metastatice de cancer.

primă caracterul malign al bolii canceroase, să fie urmarea acestei depresii imunologice.

În privinţa cauzelor care au dus la această depresiune, cauze ce explică ineficacitatea imunităţii antitumorale, s-au emis multe ipoteze, care pot fi incluse în două grupe: 1) alterarea capacităţii funcţionale a celulelor participante la reacţia imună de către anumiţi metaboliţi tumorali şi 2) interferenţa dintre antigeni, anticorpi şi limfocite, ducînd la suprimarea eficacităţii acţiunii celor din urmă. Ambele fenomene par să fie parţial responsabile de lipsa de eficacitate a reacţiei antitumorale.

2. ALTERAREA CAPACITĂŢII FUNCŢIONALE A CELULELOR PARTICIPANTE LA REACŢIA IMUNĂ

O incompetenţă funcţională a celulelor cu rol activ în reacţia imună — macrofage sau diferite categorii de limfocite —, este foarte verosimilă în lumina datelor expuse anterior.

Pornind de la rolul *macrofagelor* în recunoaşterea antigenului şi declanşarea reacţiei imune, Costăchel (1970, 1971) subliniază importanţa alterării acestei funcţii în producerea depresiunii imunologice din cancer. Limfocitul nesensibilizat, pus direct în contact cu o celulă incompatibilă, poate să nu-i recunoască caracterul străin şi să nu reacţioneze. În schimb, el reacţionează (recunoaşte) complexul ribonucleoproteic, format cu o anumită proteină a acestei celule la nivelul macrofagului. Se pare că fenomenul de „depăşire" a capacităţii imunocompetente este legat de depăşirea capacităţii macrofagelor de a fagocita antigenul. Paralizia imunologică, respectiv toleranţa, apare în cazul unui contact masiv al antigenului rămas necaptat de macrofage, direct, cu limfocitele nesensibilizate faţă de acest antigen. Aceasta ar duce la „blocarea" clonelor limfocitare care, dacă nu ar fi blocate, ar trebui să recunoască complexul ribonucleoproteic format în macrofage; acesta reprezintă „antigenul secundar" specific pentru declanşarea procesului de formare a anticorpilor.

Importanţa procesului de recunoaştere în relaţia de toleranţă în sistemul tumoare/organism a putut fi stabilită experimental prin metoda polipasajului tumoral şi prin cea a „sensibilizării". De exemplu, la pacienţi cu cancer, prin metoda grefei epidermice s-a aplicat material citologic considerat potenţial imunogen pe suprafaţa dermului lipsit de epiderm. Tolerarea tumorii de către organism este datorată unei deficienţe a recunoaşterii caracterului străin al celulei maligne la nivelul macrofagului. Regresiunea tumorală obţinută atît experimental, cît şi în clinică prin corectarea *in vitro* a capacităţii de recunoaştere a macrofagelor constituie o dovadă a importanţei fenomenului de recunoaştere în toleranţa celulei maligne (Costăchel şi colab., 1970).

Scanned with OKEN Scanner

Lucrări efectuate de Fauve şi Jacob (1974) au adus contribuţii interesante la mecanismul alterării capacităţii de recunoaştere a macrofagelor. În conformitate cu rezultatele obţinute de aceşti cercetători, celulele canceroase, ca şi celulele trofoblastice, reuşesc să evite reacţia imună a organismului prin producerea unor factori toxici care împiedică afluxul macrofagelor. Aceşti factori nu alterează cu nimic alte reacţii imune, cum ar fi, de exemplu, producerea anticorpilor antibacterieni. Aceeaşi toleranţă poate fi obţinută prin injecţia de substanţe toxice bacteriene, agresine, care, de asemenea, împiedică activitatea fagocitelor.

Existenţa unor astfel de factori a fost sugerată de experienţe *in vitro* şi *in vivo*. *In vitro*, spre deosebire de culturile de ţesuturi normale (rinichi de şoarece), asupra cărora macrofagele peritoneale exercită o evidentă acţiune litică, culturile de celule canceroase (teratocarcinom murin, melanom, carcinom bronşic) nu sînt invadate de macrofage, care apar inerte. *In vivo*, injectarea aceleiaşi celule tumorale produce o reacţie mult mai redusă decît inocularea celulelor normale. Factorul responsabil de această acţiune ar fi o proteină cu greutatea moleculară între 1 000 şi 10 000. El este produs şi de celulele trofoblastice ale placentei, cunoscute prin unele poprietăţi similare celulelor canceroase şi ar fi responsabil de tolerarea acestor celule, diferite antigenic de restul organismului, de către mucoasa uterină. *In vitro*, culturile de celule trofoblastice exercită asupra macrofagelor o acţiune inhibitorie şi chiar nocivă, similară celulelor canceroase. Acest factor antiinflamator şi fagotoxic ar fi produs de majoritatea tumorilor maligne.

Incompetenţa funcţională a *limfocitelor* în organisme cu cancer, asupra căreia s-a discutat cu puţin înainte, are desigur şi ea un rol în producerea depresiei imunologice. Există o serie de observaţii experimentale care sugerează că metaboliţii tumorali sînt capabili să altereze funcţia acestor celule. Astfel, capacitatea limfocitelor de a forma rozete, plăci de hemoliză sau anticorpi este diminuată de administrarea a diferite extrase tumorale sau lichide acelulare de tumori ascitice (Witz şi colab., 1972; Chan şi Sinclair, 1972). La pacienţi cu cancer, se constată scăderea capacităţii de imunoaderenţă a limfocitelor separate din vasele eferente, în comparaţie cu limfocitele din vasele aferente ale unui organ cu tumoare.

În capitolul precedent am subliniat importanţa pe care o acordăm involuţiei timusului în organismele cu cancer, involuţie care, parţial, pare să fie produsă şi de activitatea unor metaboliţi tumorali (Fukuoka şi Nakahara, 1957; Chiricuţă, Simu şi Toma, 1970). Această involuţie joacă desigur un anumit rol în apariţia depresiei imunologice, prin incapacitatea acestui organ de a produce în continuare o anumită cantitate de limfocite T. Timusul nu este singura sursă de limfocite a cărei funcţie este alterată de prezenţa tumorii maligne. Lucrările lui Mocarelli şi colab. (1972) arată că tumorile maligne, cum ar fi carcinomul Ehrlich, produc

Scanned with OKEN Scanner

un factor solubil cu evidentă acţiune inhibitorie asupra celulelor nediferenţiate din măduva hematogenă, sursă a limfocitelor T şi B.

Incontestabil, alterarea capacităţii funcţionale a macrofagelor şi limfocitelor reprezintă o cauză importantă a incompetenţei imunologice a organismelor cu cancer. O altă cauză importantă este, după cum se va vedea în continuare, stabilirea unor raporturi particulare între antigen, limfocite şi anticorpi.

3. RAPORTURI PARTICULARE ÎNTRE ANTIGEN, LIMFOCITE ŞI ANTICORPI ÎN CANCER

Capacitatea anticorpilor umorali de a inhiba în anumite condiţii eficacitatea acţiunii limfocitelor împotriva celulelor histoincompatibile a fost de fapt demonstrată de fenomenul de facilitare. Reproducerea acestui fenomen *in vitro* constă în protejarea unor culturi de celule faţă de limfocitele sensibilizate prin anticorpi serici. Din această cauză, fenomenul de facilitare a fost în mai multe rînduri invocat spre a explica evitarea reacţiei imune de către celulele tumorale, în cursul genezei şi evoluţiei cancerului.

Green (1954) explica lipsa de eficacitate a reacţiei antitumorale prin acţiunea unor astfel de anticorpi, care lipsiţi de acţiune litică eficientă asupra celulelor tumorale, se fixează pe suprafaţa acestor celule şi fie le maschează antigenele, fie le modifică. În orice caz, celulele tumorale, cu antigenicitate suprimată sau diminuată, nu mai induc, în continuare, răspunsul imun al organismului. Ele pot prolifera nestingherite şi produce metastaze. S-a amintit că Molomut (1963) considera, de asemenea, metastazarea drept expresia unui fenomen de facilitare.

Aceste două păreri erau aparent în contradicţie cu ipoteza lui Feldman (1962), după care ineficacitatea reacţiei tumorale s-ar datori mai degrabă unei paralizii imunologice produse de cantităţile mari de antigene eliberate de tumoarea malignă.

Lucrări executate începînd din 1969 în special de către soţii Hellström şi de Robert W. Baldwin şi colab. au demonstrat că, de fapt, la baza ineficacităţii reacţiei imune antitumorale stau unele fenomene de interferenţă între antigen, limfocite şi anticorpi.

Demonstrarea incontestabilă *in vitro*, a acţiunii citolitice a limfocitelor asupra celulelor tumorale, atît în tumori experimentale, cît şi umane, făcută în special de soţii Hellström (1969), a ridicat problema necesităţii explicaţiei ineficacităţii acestor limfocite *in vivo*. S-a afirmat că limfocitele imune sînt, *in vivo*, prea puţin numeroase în raport cu masa tumorală (Hellström şi Hellström, 1969). S-a pus însă şi ipoteza existenţei *in vivo* a unor factori fie cu acţiune inhibantă asupra limfocitelor, fie cu acţiune protectoare asupra celulelor tumorale, fie acţionînd

Scanned with OKEN Scanner

în ambele direcţii, în orice caz interferînd cu capacitatea limfocitelor imune de a distruge celulele tumorale.

În acest sens, autorii menţionaţi au început să cerceteze, cu ajutorul metodelor de citotoxicitate care dovediseră eficacitatea limfocitelor, dacă nu cumva serul purtătorilor de tumori maligne are capacitatea de a bloca acţiunea citotoxică a limfocitelor imune. De data aceasta, culturile de celule neoplazice au fost puse în prezenţa serului propriu sau a altui ser, înainte de a se adăuga limfocitele. S-a constatat astfel că serul animalelor sau al indivizilor cu tumori maligne conţine de fapt factori serici *blocanţi* sau inhibitori capabili să împiedice distrugerea celulelor tumorale de către limfocitele imune. Fenomenul a fost demonstrat în special pe şoareci cu sarcom Moloney (Hellström şi Hellström, 1969) (fig. 92), dar a fost regăsit şi la bolnavii de cancer, la care acţiunea blocantă apărea

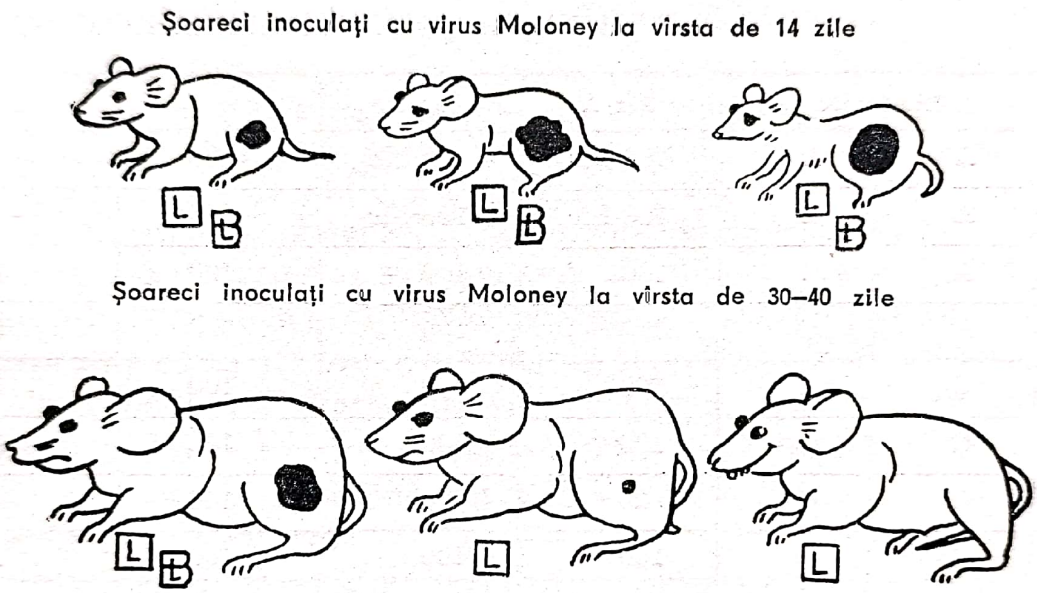


Fig. 92. — Fenomenul de blocare la şoareci cu sarcom Moloney (după Hellström şi Hellström, 1972).

specifică (fig. 93). La început s-a crezut că această activitate ar fi mediată de „anticorpi blocanţi", întrucît putea fi îndepărtată de absorbţia serului cu celule tumorale respective. Acţiunea blocantă a serului era însă mai evidentă în cazul incubării sale prealabile cu limfocitele, decît cu celulele tumorale. De asemenea, factorii blocanţi dispăreau scurt timp după regresiunea tumorii sau după îndepărtarea sa chirurgicală. Există

Scanned with OKEN Scanner

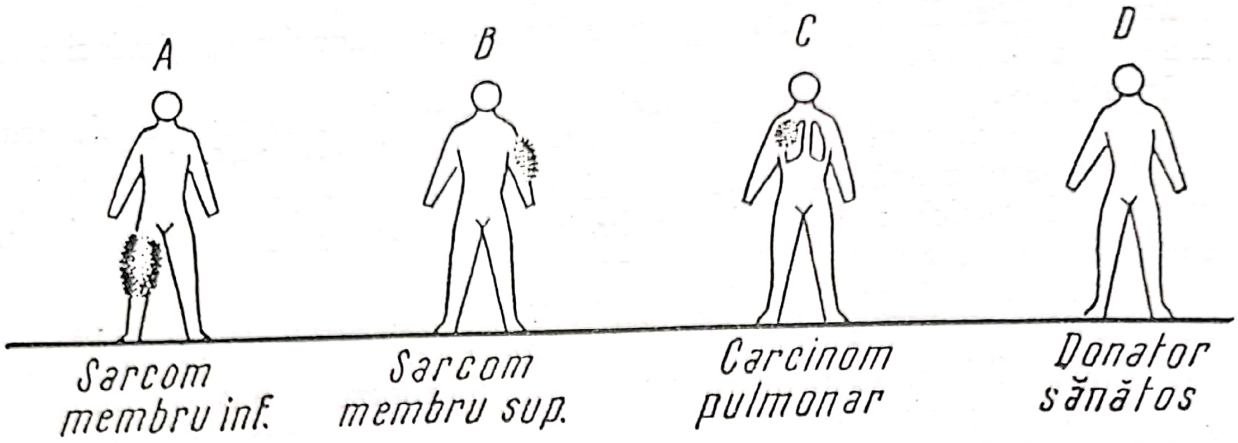


Fig. 93. — Activitatea blocantă a serului la pacienţi cu cancer (după Hellström şi Hellström, 1972).

Numărul celulelor în probele de citotoxicitate

	Limfocite		Ser A	Ser B	Ser C	Ser D
Celule tumorale	A	A	100 blc	100 blc	→20	→20
	A	B	100 blc	100 blc	→20	→20
	A	C	100	100	100	100
	A	D	100	100	100	100
	C	A	100	100	100	100
	C	B	100	100	100	100
	C	C	→20	→20	100	→20
	C	D	100	100	100	100

→ = distrugerea celulelor tumorale de către limfocite
blc = blocarea efectului citotoxic al limfocitelor

o strînsă corelaţie între această activitate *in vitro* şi comportarea tumorii *in vivo:* serul animalelor purtătoare de tumori cu creştere activă, ca şi eluatele acestor tumori, au acţiune blocantă a citotoxicităţii limfocitelor *in vitro.* Organismele purtătoare de tumori în proliferare activă şi avînd exprimată activitate blocantă a serului acceptă mici transplante din tumoarea respectivă, spre deosebire de organismele care, în urma îndepărtării chirurgicale a tumorii, prezintă diminuarea acestei activităţi şi rezistenţă la transplantarea tumorii respective.

Toate aceste observaţii au sugerat că factorii blocanţi sînt *complexe de antigen-anticorp* (Sjögren, Hellström, Bansal şi Hellström, 1971), cu specificitate ridicată, putînd fi adsorbiţi pe celulele tumorale şi apoi eluaţi. Prin eluţie la pH 3.1 şi ultrafiltrare ei pot fi separaţi în două

componente, una cu greutate moleculară peste 100 000, de natură Ig, şi alta între 10 000—100 000, fără structură Ig. Componenta mică, incubată cu limfocitele, le blochează efectul citotoxic, dar acest efect nu se obţine prin incubarea sa cu celulele tumorale. Cealaltă componentă este lipsită de acţiunea blocantă în ambele împrejurări. Complexul format din cele două componente are acţiune blocantă în amîndouă situaţiile. Se crede că efectul blocant asupra limfocitelor ar fi mediat de complexul antigen-anticorp, ca şi de antigenul liber, şi ar fi mai important decît efectul blocant asupra celulelor tumorale.

Dovezi în acest sens au fost aduse de Baldwin şi colab. (1974), care au arătat că antigenele tumorale solubilizate cu papaină şi anticorpii respectivi, care, separaţi, sînt lipsiţi de acţiune la nivelul celulelor tumorale, pot bloca citotoxicitatea limfocitelor, cînd celulele tumorale sînt incubate cu complexe obţinute prin amestecul potrivit de antigen şi anticorp. Aceste complexe, ca şi antigenul, blochează acţiunea limfocitelor.

Concentraţia celor două componente este esenţială în realizarea activităţii blocante şi se manifestă numai la anumite diluţii ale serului, aşa cum se întîmplă în cazul prepeliţelor japoneze, care s-au vindecat de sarcom Rous. Lipsa de activitate la concentraţii mai mari de anticorp s-ar datora lipsei de antigene libere capabile să blocheze limfocitele. În ultimul timp s-a convenit să se numească „inhibitori", factorii care acţionează asupra limfocitelor (antigene solubile) şi „factori blocanţi", anticorpii care se fixează pe celulele tumorale (Stevenson şi Laurence, 1975).

Corelaţia între activitatea blocantă a serului, evidentă *in vitro,* şi proliferarea activă a tumorii a fost constatată şi la pacienţi. Ea dispare cu ocazia remisiunilor spontane sau a îndepărtării chirurgicale a tumorii şi revine odată cu recidiva.

Dacă factorii blocanţi sînt de fapt complexe de antigen-anticorp cu antigenul în exces sau antigen liber, adăugarea de anticorp în exces ar putea duce la suprimarea acţiunii blocante, luîndu-se precauţia ca anticorpii să nu mascheze antigenele de pe suprafaţa celulelor tumorale. De fapt, unele seruri ale organismelor cu cancer au o acţiune deblocantă.

Fenomenul a fost observat pentru prima dată la şoareci cu sarcom indus de virusul Moloney, caracterizat prin faptul că involuează spontan la animalele adulte, proliferînd malign numai la animalele mai tinere de 3 săptămîni. Serul acestor şoareci are un efect blocant pînă în momentul cînd tumoarea începe să regreseze; dispariţia blocării se datoreşte unor *anticorpi deblocanţi,* capabili să suprime blocarea *in vitro* şi să inducă un efect favorabil asupra regresiunii tumorale *in vivo.* Astfel de anticorpi deblocanţi au fost puşi în evidenţă şi la şobolani sau şoareci cu tumori induse de virusul polioma (Bansal şi Sjögren, 1971) sau la oa-

Scanned with OKEN Scanner

meni ale căror neoplasme au regresat spontan sau au fost îndepărtate chirurgical (Hellström, Hellström, Sjögren, Warner, 1971) (fig. 94).

Anticorpii deblocanți par legați de așa-numita activitate potențiatoare sau armantă a serului. Anumite seruri imune pot *potența* sau am-

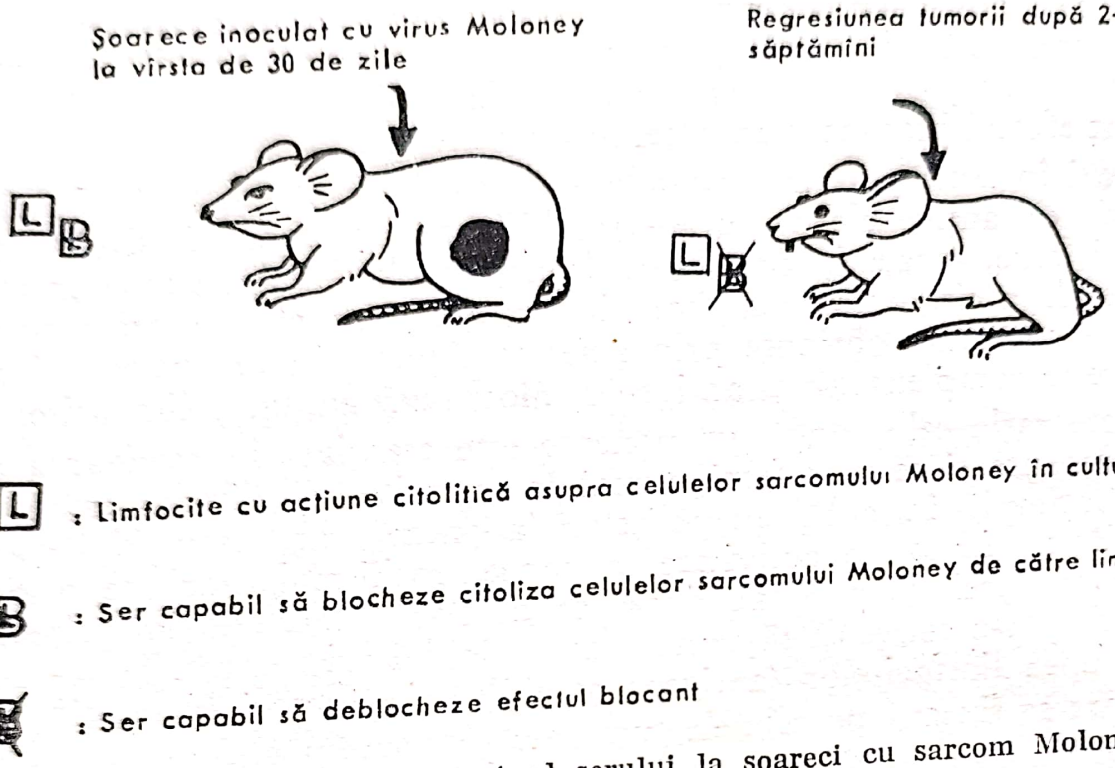


Fig. 94. — Efectul deblocant al serului la șoareci cu sarcom Moloney (după Hellström și Hellström, 1972).

plifica efectul citotoxic al limfocitelor imune (Skurzak și colab., 1972). De asemenea, serurile imune pot conferi activitate citotoxică unor limfocite normale provenite de la persoane neimunizate, avînd un efect „armant" asupra lor (Pollak și colab., 1972). Ambele activități sînt specifice și probabil induc acțiunea litică a limfocitelor prin mecanisme caracteristice imunității de transplant: serurile conținînd complexe antigen-anticorp cu anticorpul în exces se leagă concomitent de limfocite și de celulele țintă și favorizează liza celor din urmă de către cele dintîi. Limfocitele antrenate în această reacție nu sînt nici limfocite T, nici limfocite B, ci limfocite K. Nu se știe dacă efectele de potențare și de armare reprezintă aspecte diferite ale aceluiași fenomen sau sînt două fenomene diferite, după cum nu se cunoaște nici amploarea fenomenului *in vivo*.

În urma observațiilor efectuate pe pacienți, soții Hellström (1974) insistă în special asupra faptului că acțiunea citolitică a limfocitelor este mai exprimată la pacienți cu tumori mici decît la cei cu tumori mari, după cum reiese din calcularea numărului minim de limfocite necesar

distrugerii tumorii *in vitro*. De asemenea, este important că de multe ori serul unor pacienţi cu cancer blochează activitatea limfocitelor pacienţilor cu tumori de acelaşi tip histologic. Existenţa acestor reacţii încrucişate între tipuri tumorale identice naşte speranţa posibilităţii utilizării serurilor cu acţiune deblocantă provenite de la unii pacienţi vindecaţi de cancer, în scopul tratării unor forme identice. Trebuie reţinut, însă, că nu există totdeauna o corelaţie absolută între rezultatele obţinute *in vitro* şi evoluţia tumorii: activitatea blocantă poate lipsi în serul unor pacienţi cu tumori evolutive şi poate fi prezentă la cei cu tumori aparent staţionare. Este totuşi important că revenirea activităţii blocante precede producerea recidivelor.

Rezultatele expuse şi în special ultimele consideraţii au importante implicaţii clinice. Faptul că celulele tumorale pot fi distruse de limfocite şi că factori serici pot împiedica sau favoriza această acţiune deschide perspectiva unor aplicaţii practice. Unele rezultate obţinute la animale asupra efectelor favorabile ale serurilor deblocante, potenţatoare sau armante, le includ pe acestea printre metodele de perspectivă în imunoterapia tumorilor.

4. CONCLUZII

Faptele expuse în ultima parte a acestui capitol aduc dovezi în sensul că într-o anumită fază a bolii canceroase, care clinic se traduce prin prezenţa de metastaze multiple sau generalizate, se produce o depresie evidentă a imunităţii, care probabil este responsabilă în mare parte de apariţia acestor metastaze. Această depresie se referă în special la reacţiile imune mediate celular.

Această depresie imunologică pare să implice un mecanism complex. Scăderea capacităţii funcţionale a macrofagelor şi limfocitelor, sub acţiunea unor factori sau metaboliţi tumorali, este incontestabilă, după cum stabilirea unor raporturi speciale între antigenul tumoral, limfocite şi anticorpi poate genera ineficacitatea reacţiei imune. O mai bună cunoaştere a ultimului aspect, făcînd posibilă influenţarea proprietăţilor blocante ale serului în proprietăţi deblocante, ridică interesante perspective practice terapeutice.

Scanned with OKEN Scanner

VI

ASPECTE PARTICULARE ALE IMUNITĂȚII ÎN UNELE FORME DE CANCER

A. CANCERUL MAMAR

Interesul deosebit acordat la ora actuală localizării mamare a cancerului se datorește în primul rînd frecvenței ridicate și gravității bolii. În majoritatea țărilor din Europa și America de Nord cancerul mamar reprezintă cea mai frecventă sau a doua localizare a bolii maligne la femeie, la care reprezintă o cincime din decesele prin cancer și a douăzeci și cincea parte din totalitatea deceselor. La femeile între 25—34 de ani, cancerul mamar constituie a doua cauză de deces, după accidente și sinucideri, devenind prima cauză a mortalității între 35—54 de ani (după această vîrstă trece pe locul al doilea, cedînd primordialitatea bolilor cardio-vasculare). În fiecare an, această boală produce moartea a 250 000 de femei (Logan, 1975).

În timp ce mortalitatea prin alte localizări importante ale cancerului a scăzut progresiv în ultimii ani, mortalitatea prin cancer mamar a crescut lent, micile succese terapeutice neputînd compensa creșterea incidenței. Incapacitatea medicinii contemporane de a controla cancerul unui organ atît de accesibil autoexaminării, ca și examenul clinic este, după Robbins (1974), un aspect ironic și totodată tragic.

Considerentele menționate justifică încercările de a se mări eficiența metodelor obișnuite de tratament (exereză chirurgicală, radioterapie, tratament hormonal, chimioterapie) prin alte metode, inclusiv prin imunoterapie. Încercările de stimulare a rezistenței imune a pacientei împotriva propriei sale tumori sînt justificate de observațiile devenite

Scanned with OKEN Scanner

clasice — clinice şi de laborator —, asupra importanţei terenului pe care evoluează tumoarea. Clinicienii au insistat de mult timp asupra comportării foarte variate a pacientelor cu cancer mamar; se observă că în timp ce unele supravieţuiesc timp îndelungat, în ciuda intervenţiei terapeutice tardive sau chiar în lipsa oricărei terapii, altele sucombă la scurt timp după îndepărtarea şi tratarea corectă a unor leziuni „incipiente". În acest sens iese în evidenţă în special completa lipsă de rezistenţă a organismului în cazurile de carcinom mamar de tip inflamator sau în carcinoamele mamare asociate cu puseu evolutiv, în care aparent, pe lîngă un profil hormonal special care stimulează proliferarea tumorală, se pare că există şi o inerţie imunologică.

1. PARTICULARITĂŢI CLINICE

Factorii imuni sînt consideraţi responsabili, alături de factori endocrini sau de altă natură, de evoluţia neobişnuită a unor forme de cancer. În carcinomul inflamator sau mastita carcinomatoasă, capacitatea mare de diseminare limfatică a tumorii, cu interesarea largă a limfaticelor cutanate, reproduce semnele unei inflamaţii acute. Diseminarea metastatică extinsă care urmează foarte curînd interesării mamare, în ciuda oricărei intervenţii terapeutice, sugerează o reacţie imună redusă din partea organismului. Alţi factori, cum sînt capacitatea proliferativă mare şi stimularea hormonală trebuie de asemenea luaţi în considerare. La astfel de paciente, Chiricuţă, Frenkel şi Munteanu (1975) au constatat o relativă creştere a estrogenilor, pe lîngă scăderea androgenilor, ceea ce indică un profil hormonal particular.

Robbins şi colab. (1974) subliniază ca un aspect histologic semnificativ al interesării cutanate, variabilitatea reacţiei inflamatorii. În cele mai multe cazuri, nu exista o reacţie inflamatorie sau aceasta era foarte redusă în jurul limfaticelor conţinînd celule tumorale. Numai în cîteva cazuri s-a constatat o moderată acumulare de limfocite şi doar în două din 16 cazuri, reacţia inflamatorie perilimfatică era intensă, constînd din limfocite şi monocite. Aceste observaţii întăresc presupunerea că rezistenţa organismului este minimă în asemena cazuri, fără să se poată exclude însă anumite particularităţi biologice, încă obscure, ale tumorilor cu astfel de evoluţie.

O situaţie analoagă ar putea exista în formele mai puţin aparente clinic, dar avînd anumite caracteristici radiologice şi de laborator individualizate de Denoix (1970) sub numele de carcinoame mamare cu puseu evolutiv, care, de asemenea, prezintă o exprimată tendinţă de diseminare şi recidivă. În aceste cazuri, aşa cum au confirmat cercetările lui Chiricuţă, Bologa, Maria Bucur şi Munteanu (1971), existenţa puseului evolutiv, care exprimă o reacţie diminuată a organismului la agresiunea tumorală poate fi pusă în evidenţă, nu numai prin mamo-

Scanned with OKEN Scanner

grafie şi termografie, ci şi prin aplicarea metodei termoviziunii cu raze infraroşii şi a testului perfuziei intravenoase cu glucoză, după procedeul Chiricuţă-Mustea: administrarea prin perfuzie a 600 ml de glucoză 10% timp de o oră provoacă creşterea temperaturii zonei tumorale cu 1—1,5° la o pacientă cu carcinom fără puseu evolutiv şi cu 2—3°, uneori cu 4—5°, în cazul existenţei puseului (Opriş, Maria Bucur, 1969).

Pornind de la presupunerea unei anumite uniformităţi antigenice a cancerelor mamare, Khafagy şi colab. (1975) au studiat evoluţia pacientelor care au prezentat o a doua tumoare în celălalt sîn, căutînd să surprindă manifestările unei reacţii imune secundare. La 82 de astfel de paciente (care în majoritate prezentaseră înainte de 50 de ani un cancer plurifocal intracanalicular sau lobular) nu s-au găsit diferenţe, nici în ceea ce priveşte procesul de metastazare al ganglionilor axilari, nici în ceea ce priveşte evoluţia clinică a bolii, în sensul existenţei unei rezistenţe sau sensibilizări. Regresiunea cancerului mamar spontan sau sub acţiunea unor tratamente paleative, s-a constatat doar în 5 cazuri, din grupul de 130 de asemenea cazuri studiate de Everson (1964).

Trebuie menţionată şi influenţa pe care *stress*-ul psihic o are, în mod evident, asupra apariţiei şi evoluţiei cancerului mamar. Evitarea surmenajului fizic şi a depresiunii psihice este totdeauna recomandată pacientelor cu cancer mamar în cursul tratamentului. Ea a fost subliniată de Crăciun şi este demonstrată experimental: incidenţa tumorilor maligne mamare poate fi crescută de la 7 la 12% la şoarece prin producerea unui *stress* cronic continuu sau intermitent (Riley, 1975). Acţiunea imunodepresoare prin producţie crescută de hormoni glucocorticoizi este foarte probabilă în această situaţie.

În sfîrşit, importanţa stării imune a pacientei în aprecierea prognosticului şi alegerea tratamentului a fost recent subliniată de Roger Poisson (1974). La pacientele cu forme relativ avansate dar încă operabile de cancer mamar, însă cu imunocompetenţă redusă, prognosticul este mai rezervat decît la cele cu reactivitate imunologică bună. Pentru explorarea imunităţii se utilizează intradermoreacţia la DNCB, determinarea proporţiei de limfocite T şi B, capacitatea de transformare blastică a limfocitelor în culturi mixte şi capacitatea limfocitelor de a produce inhibiţia coloniilor de celule alogenice. În cazul pacientelor cu reacţii imune bune, care prezintă un cancer de dimnesiuni sub 1,5 cm, acest autor se limitează la excizie sectorală, cu conservarea sînului.

2. PROBLEME DE RAPORTURI ANTIGENICE MURINE/UMANE IN CANCERUL MAMAR

Importanţa imunităţii în cancerul mamar este subliniată şi de ipotezele recente asupra unei eventuale etiologii virale, ca şi în cazul tumorilor

mamare maligne ale unor şoareci. Se ştie că în 1936, Bittner a descoperit natura virală a carcinomului mamar al şoarecelui, care este transmis de la mamă la descendenţi prin lapte (şoarecii dintr-o tulpină cu frecvenţă joasă de cancer prezintă mult mai des tumoarea dacă sînt alăptaţi de o doică provenită dintr-o tulpină cu incidenţă ridicată şi invers). Virusul este prezent atît în ţesutul carcinomatos, cît şi, în măsură mai redusă, în restul ţesuturilor şi în sînge. Cea mai importantă sursă de izolare a sa este laptele. Prezenţa virusului în sperma permite transmiterea lui de la mascul la femelă.

Aceste studii au fost reactualizate de punerea în evidenţă a unor corpusculi aparent de natură virală, foarte asemănători virusului Bittner, în secreţia mamară a unor femei sănătoase, provenite din familii în care existau cazuri de cancer mamar. Incidenţa corpusculilor virali este ridicată mai ales în unele comunităţi închise de populaţie, cum sînt parsii din India, care de mai bine de o mie de ani se căsătoresc numai între ei, realizînd o relativă omogenitate genetică, în care se pune problema unei transmisiuni „verticale" a virusului, cum a numit Ludwik Gross transmiterea de la părinţi la descendenţi. Atît la şoarecii femele, cît şi la femei, în lapte se găsesc particule virale de tip B formate dintr-o porţiune sferică centrală, compactă, de ARN şi proteine, înconjurată de o peliculă glicoproteică. Evidenţierea în particulele izolate de la femeie a unei revers-transcriptaze identice celei produse de virusul carcinomului murin întăreşte şi mai mult presupunerea că cel puţin unele cancere mamare ar avea etiologie virală şi că există o legătură între virusul uman şi cel murin. Această presupunere a determinat cercetări asupra particularităţilor de patogeneză a bolii la şoarece şi a raporturilor sale cu boala umană.

S-a arătat astfel că un aspect caracteristic la şoarece este importanţa pătrunderii timpurii a virusului în organism (Phyllis Blair, 1976). Reacţia organismului împotriva tumorii a fost demonstrată atît prin probe de citotoxicitate, cît şi prin probe de inhibiţie a migrării macrofagelor sau de transformare blastică.

Cercetări ample au fost efectuate în special de Dmochowski, Bowen şi colab. (1976). Ei au constatat că şoarecii cu cancer mamar produc anticorpi faţă de o varietate de antigene asociate cu celule tumorale autoloage, izoloage sau homoloage, în special faţă de componentele virusului (fenomen caracteristic tumorilor cu virus ARN), dar posibil şi faţă de antigene tumorale nevirale. Aceste antigene au o localizare intracelulară (citoplasmatică şi perinucleară) sau superficială, fiind asociate cu apariţia de particule virale de tip A sau B. Serurile şoarecilor cu tumori mamare conţin anticorpi care reacţionează cu un spectru larg de astfel de antigene, inclusiv cu cele conţinute în învelişul virusului, dînd intense reacţii de imunofluorescenţă cu particulele virale şi membrana celulară. Serul

Scanned with OKEN Scanner

unor paciente cu cancer mamar, al unor rude de ale acestora, ca şi serul unor persoane aparent normale, prezintă anticorpi faţă de celulele tumorilor mamare murine induse de virus. La un procent mai redus de paciente cu cancer mamar reacţia anticorpilor serici cu particule de virus murin a putut fi demonstrată prin procedee de imunomicroscopie electronică. Aceste rezultate coincid cu cele ale lui Charney şi Moore (1971) asupra existenţei în serul pacientelor cu cancer mamar a unor anticorpi neutralizanţi faţă de virusul carcinomului murin, sau cu rezultatele lui Muller şi Grossman (1972). În privinţa numărului mai mic de reacţii pozitive în cazul utilizării procedeelor de microscopie imunoelectronică, fenomenul s-ar datori faptului că aceste tehnici nu indică decît activitatea unor categorii de anticorpi. Testele de imunomicroscopie electronică au utilizat metodele imunoferitinei indirecte şi imunoperoxidazei indirecte, cu care se evidenţiază fixarea pe particulele virale doar a Ig marcate cu aceste două substanţe.

Observaţiile asupra unor reacţii încrucişate între serurile pacientelor cu cancer mamar şi antigenele virusului cancerului mamar murin prezintă importante implicaţii în ceea ce priveşte un posibil rol etiologic al unui virus înrudit în cancerul mamar. Se ridică şi problema unor perspective de imunoterapie, sub rezerva confirmării acestor rezultate, care, după Dmochowski, au meritul că indică direcţia cercetărilor viitoare asupra etiologiei şi tratamentului cancerului mamar.

Faptul că leucocitele unui număr considerabil de paciente cu cancer mamar reacţionează cu laptele de la tulpina de şoareci R III, care conţine virusul carcinomului mamar murin, aduce noi argumente în favoarea unei legături între acest virus şi cancerul mamar uman. Aceasta cu atît mai mult, cu cît leucocitele care reacţionează net faţă de virusul murin, reacţionează evident şi faţă de propriul ţesut tumoral (Black şi colab., 1974). Aparenta înrudire antigenică între virusul carcinomului murin şi cancerul mamar uman este sugerată şi de analogia fizico-chimică de comportare în gel de poliacrilamidă a virusului şi fracţiunii proteice izolate din ţesutul canceros; ambele structuri prezintă aceeaşi greutate moleculară (51 500).

Lucrări de *hibridare moleculară*, executate de Schlom şi Spiegelman (1973), au arătat că ARN obţinut dintr-o importantă proporţie de cancere mamare umane se hibridează cu ADN obţinut prin activitatea revers-transcriptazei produse de virusul carcinomului mamar murin. Întrucît hibridarea nu se poate obţine cu ARN provenit din orice formă de cancer mamar, rămîne de stabilit dacă acest fenomen are vreun raport cu caracteristicile clinice sau anatomo-patologice ale tumorii.

Rezultate oarecum diferite, dar care pun problema unei etiologii virale multiple, sînt cele ale lui Yeh şi colab. (1975), care au pus în evi-

denţă în extract de cancere mamare umane proteinele structurale majore caracteristice virusului Mason-Pfizer izolat din cancerul mamar al maimuţei Rhesus. Acest virus are proprietăţile fizice şi biochimice ale virusurilor ARN oncogene. ADN complimentar hibridează preferenţial cu ARN extras din cancerele umane. Astfel de structuri nucleoproteice nu au putut fi evidenţiate în extractele de placentă normală sau în cancerele cu alte localizări.

3. ASPECTE IMUNOPATOLOGICE

Cancerul mamar a fost una din primele forme de tumoare malignă în care s-a presupus, pe baza observaţiilor microscopice, intervenţia unor factori de natură imună. Astfel, încă în 1922, Mac Carty a individualizat în cadrul tumorilor maligne ale sînului, aşa-numitul carcinom medular, care, în ciuda unor dimensiuni apreciabile şi a anaplaziei histologice, se remarcă printr-o evoluţie mai favorabilă decît majoritatea acestor tumori. Mac Carty a pus această comportare specială pe seama rezistenţei organismului faţă de propria sa tumoare, exprimată microscopic printr-o abundentă infiltraţie limfocitară şi o fibroză peritumorală. Observaţiile ulterioare au confirmat acest punct de vedere, carcinomul medular constituind astăzi o formă specială de cancer mamar în cadrul diferitelor clasificări histologice prognostice, cu evoluţie mai favorabilă decît multe carcinoame glandulare bine diferenţiate.

În 1953, Black a deschis o cale nouă atît în patologie, cît şi în studiul substratului microscopic al reacţiei imune prin observaţiile sale asupra importanţei prognostice a modificărilor microscopice din ganglionii axilari ai pacientelor cu cancer mamar. Rezultatele sale au impulsionat acele cercetări care încearcă aprecierea rezistenţei imune a organismului prin studiul microscopic al reacţiei inflamatorii peritumorale şi din ganglionii axilari. Concomitent, capacitatea de reacţie imună, celulară sau umorală, a pacientelor cu cancer mamar a început să fie explorată prin metode din ce în ce mai perfecţionate.

Black şi colab. (1953) au arătat că prezenţa unei hiperplazii histiocitare care umple şi destinde capilarele sinusoide ale ganglionilor axilari, aşa-numita *histiocitoză sinusală,* reprezintă, în lipsa metastazelor, un semn prognostic favorabil, asociat de obicei cu o supravieţuire de peste 5 ani. Intensitatea hiperplaziei poate fi gradată, procentul supravieţuirilor crescînd în funcţie de intensitatea reacţiei. Confirmată de majoritatea cercetătorilor (Massé şi Chassaigne, 1962; Anastassiades şi Pryce, 1966; Hilf şi colab., 1970), contestată de alţii, în special de Berg (1956), modificarea histologică descrisă pare să aibă o importantă valoare prognostică.

Importanţa reacţiei limfohistiocitare a fost subliniată şi de Maria Nedelea şi Rodica Duţu (1970) sau de Gioconda Dobrescu şi colab.

Scanned with OKEN Scanner

(1974). Hunter şi colab. (1975) examinînd atît ganglionii axilari, cît şi cei mamari interni, au constatat că în majoritatea cazurilor, histiocitoza sinusală exprimată a fost însoţită de supravieţuiri de peste 5 ani; bolnavele care prezentau hipertrofia centrilor germinali ca modificare predominantă, n-au supravieţuit, în general, peste acest interval. Cînd cele două modificări erau concomitente, s-a observat o durată intermediară de supravieţuire. La microscopul electronic, histiocitoza sinusală poate fi pusă în evidenţă încă din fazele incipiente ale cancerului, cînd nu este vizibilă la microscopul optic (Hirschl, Black şi Kwon, 1976). Ea ar fi expresia reacţiei imune a organismului faţă de antigenul de transplantare specific tumoral prezent în toate ţesuturile maligne, inclusiv în cancerul mamar. În ultimul timp, însuşi Berg (1972) a recunoscut că hipertrofia ganglionilor din vîrful axilei pe seama histiocitozei sinusale şi a hipertrofiei centrilor germinali reprezintă un semn prognostic favorabil: dacă ganglionii apicali hipertrofiaţi nu conţin metastaze, prognosticul este mai bun, în ciuda metastazelor din axila inferioară, decît dacă aceşti ganglioni sînt mici sau puţin evidenţi.

Rolul primordial al limfocitelor T în imunitatea antitumorală justifică recomandarea lui Cottier şi colab. (1972) de a se studia cu atenţie *zona paracorticală*. Lucrări apărute ulterior susţin că cea mai favorabilă evoluţie a fost observată la paciente ai căror ganglioni axilari prezentau tipul histologic al predominanţei limfocitare, caracteristic hipertrofiei acestei zone (Tsakraklides şi colab., 1973; Gioconda Dobrescu şi Marina Bârsu, 1977). Studiind relaţia dintre aspectul zonei paracorticale sau al histiocitozei sinusale şi prezenţa metastazelor axilare la 100 de bolnave cu cancer mamar, dintre care 50 prezentau metastaze, am constatat un incontestabil raport între gradul hipertrofiei zonei paracorticale, ca şi între intensitatea histiocitozei sinusale şi absenţa metastazelor. Cele două criterii histologice reprezintă de fapt expresia comportării celulelor cu rol important în imunitatea antitumorală. Histiocitoza sinusală, aparent mai mobilă, se întîlneşte în majoritatea cazurilor fără metastaze, dar poate fi găsită şi în prezenţa lor. Hipertrofia zonei paracorticale se produce mai lent, nu este totdeauna exprimată în cazuri fără metastaze, dar nu coincide cu metastazele. Cînd a fost observată în astfel de cazuri, foarte rar, metastazele se limitau la un număr redus de ganglioni din axila inferioară. Se poate afirma că studiul concomitent al zonei paracorticale şi al histiocitozei sinusale poate constitui un criteriu preţios de apreciere a reacţiei imune, de care se leagă într-o măsură importantă evoluţia bolii (Simu, Natalia Galatâr, Draga Nestor, Agneta Craioveanu, 1977).

S-au menţionat anterior observaţiile microscopice pe preparate colorate cu albastru de alcian-safranină, după Spicer-Csaba, în conformitate cu care la pacientele fără metastaze, atît în interstiţiul tumorii, cît şi în

Scanned with OKEN Scanner

ganglionii axilari, numărul mastocitelor este crescut şi predomină formele tinere (Simu şi Csaba, 1972).

Rezultatele acestor examinări microscopice au fost corelate cu studii asupra reacţiei imune a organismului împotriva propriei sale tumori, în scopul unei mai bune înţelegeri a biopatologiei cancerului mamar. De exemplu, Black şi Leis (1970) au modificat *tehnica ferestrei cutanate* imaginată de Rebuck şi Crowley (1955), care permite studiul formulei citologice a reacţiei inflamatorii induse de excoriaţia tegumentelor: în primele ore în exsudatul inflamator predomină granulocitele, pentru ca după 24 de ore, macrofagele să devină cele mai numeroase elemente. S-a mai menţionat că la pacienţii cu forme avansate, metastazante de cancer, se pune în evidenţă o alterare a capacităţii de mobilizare a macrofagelor, care după 24 de ore continuă să rămînă în minoritate în exsudatul inflamator. Autorii citaţi au conferit acestei reacţii un caracter de specificitate, aplicînd pe suprafaţa denudată a dermului o secţiune la criostat,

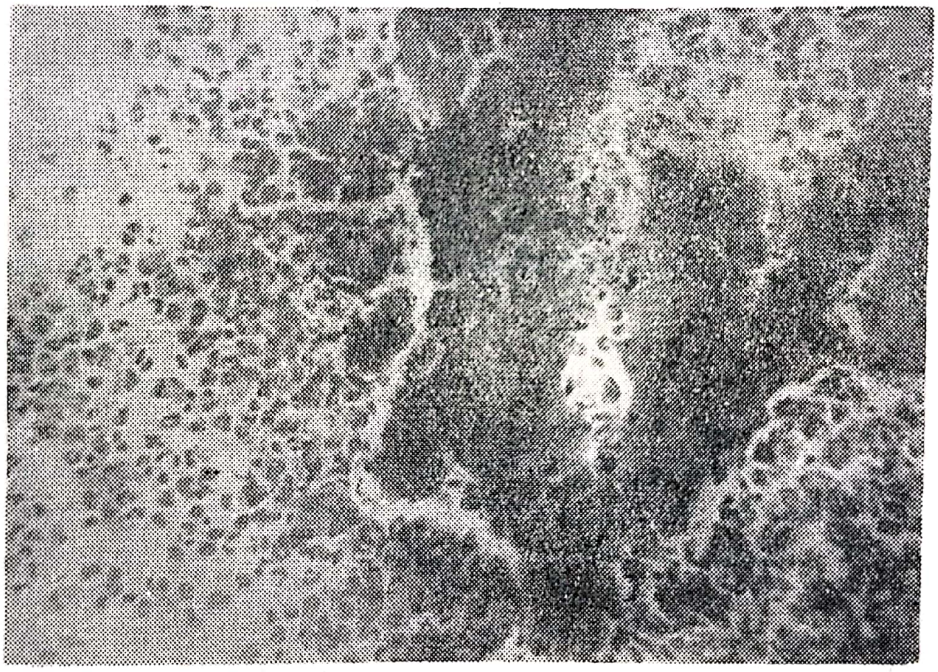


Fig. 95. — Reacţia inflamatorie la ţesut tumoral autolog (fereastră cutanată Black-Leis). Col. Sabrazés.

fixată cu alcool eter, în propria tumoare, care după 28—33 de ore se examinează şi se colorează (fig. 95).

Deşi reacţia celulară poate varia de la pacientă la pacientă şi uneori chiar la aceeaşi pacientă în decursul mai multor examinări, Black şi Leis (1971) au putut grupa diferitele aspecte citologice obţinute în cinci tipuri principale, în funcţie de comportarea celulelor mononucleare, a număru-

Scanned with OKEN Scanner

lui de celule cu granulaţii bazofile (granulocite, mastocite) şi a raportului dintre monocite şi bazofile.

Tipul I (tipul martor) se obţine la nivelul unei lamele lipsite de ţesut tumoral, aplicată la o pacientă cu cancer; se caracterizează prin prezenţa de rare macrofage, un număr variabil de granulocite şi raritatea limfocitelor.

Tipul II (agregate de macrofage unistratificate) este caracterizat prin prezenţa unor grupuri de macrofage, mai rar a celulelor izolate de acest tip.

Tipul III (agregate de celule limfoide unistratificate) constă dintr-un aspect similar realizat însă pe seama unor celule limfoide mari, diferite, în special prin nucleul lor, de macrofage.

Tipul IV (limfoblastic) se caracterizează prin predominanţa unor celule mononucleare mari cu nuclei sferici bine coloraţi şi citoplasmă intens bazofilă, izolate sau grupate. Există frecvent şi granulocite, de multe ori în raporturi directe cu celulele mononucleare, printre care numeroase bazofile. Acest raport între limfoblaste şi bazofile aminteşte fenomenul de hipersensibilitate de tip Jones-Mote (o reacţie de tip intermediar între cea de hipersensibilitate imediată şi întîrziată, care apare uneori între a treia şi a cincea zi după administrarea intradermică a unui antigen). Există însă şi reacţii limfoblastice lipsite de componentă bazofilă sau cu o astfel de componentă minimă.

Tipul V (agregate de macrofage multistratificate) este format din agregate de macrofage alungite, de multe ori aplicate pe mai multe straturi. Cînd mai multe tipuri se întîlnesc pe acelaşi preparat, se menţionează tipul net predominant sau cele două tipuri principale observate.

La pacientele cu cancer mamar, la 30 sau mai multe zile după intervenţia chirurgicală se observă tendinţa de creştere a numărului celulelor cu granulaţii bazofile, precum şi aspecte speciale ale raportului acestor celule cu mononuclearele, diferite de datele obţinute la mai puţin de 14 zile după operaţie. Pe lîngă un număr crescut de bazofile, după 30 de zile, se obţin mult mai des tipurile III, IV şi V, precum şi asocierea frecventă de mononucleare şi bazofile. Comparînd datele obţinute cu examenul ganglionilor axilari, s-a constatat coincidenţa unui număr ridicat de bazofile, în raport cu mononuclearele, în reacţii de tip III, IV sau V la paciente cu forme nemetastazante, în timp ce formele metastazante se caracterizau în general prin număr redus de bazofile şi reacţii de tipul II sau III. O histiocitoză sinusală exprimată în ganglioni coincidea de cele mai multe ori cu reacţii de tip V. La nici o pacientă cu tumori mamare benigne nu s-au obţinut reacţii de tip V sau un număr ridicat de bazofile, inclusiv în cazuri de papiloame intraductale sau mastoze exuberante.

Scanned with OKEN Scanner

Pe această linie, Chiricuță, Cornelia Todoruțiu, Rodica Mulea, Titus Mureșan și Rodica Rișcă (1975) au studiat *in vitro* aspectele imunomorfologice ale interacțiunii dintre țesutul ganglionar și tumoarea mamară, puse în contact *in vitro* în culturi de organe. Fragmente de carcinom mamar provenite de la 10 paciente, cultivate după tehnica lui Etienne Wolff, au fost puse în contact cu fragmente de ganglioni axilari autologi, care nu prezentau metastaze. Afrontarea celor două organe a reușit în majoritatea cazurilor, cele două fragmente sudîndu-se și formînd un bloc comun (fig. 96). Explantele au fost cultivate astfel timp de 8—10 zile, după care au fost examinate microscopic. În 4 culturi s-a observat în explantul tumoral o puternică reacție caracterizată prin proliferarea de histiocite și fibroblaști cu rare celule pironinofile și apariția unei rețele fibrilare fine (fig. 97). În același timp, fragmentul tumoral este invadat și puternic infiltrat cu elemente limfocitare migrate din explantul ganglionar, celulele limfoide invadînd țesutul tumoral și peritumoral. Această invazie limfocitară începe la 24 de ore după explantare și prezintă intensitate maximă în ultimele zile de cultivare (fig. 98, 99). Pe măsură ce explantul tumoral este invadat și infiltrat, explantul ganglionar se golește de limfocite. O infiltrație limfoidă exprimată a tumorii a coincis în general cu fenomene apreciabile de infiltrație limfoidă în stroma tumorii și histiocitoză sinusală ganglionară la pacientele respective.

Aceste observații sînt destul de asemănătoare cu cele obținute de Ellis și colab. (1975), care au studiat gradul de sensibilizare față de tumoarea mamară proprie a limfocitelor din ganglionii axilari și din sîngele periferic. Utilizînd proba inhibiției migrării limfocitelor în prezența extractului tumoral, s-a constatat o sensibilizare mai mare a limfocitelor ganglionare în raport cu limfocitele din sîngele periferic, subliniind activarea funcțională a limfocitelor din ganglionii regionali.

Black și colab. (1974) au studiat în continuare alte aspecte ale acestei reacții, în special *migrația leucocitară* în prezența țesutului tumoral, utilizat de asemenea sub forma unei secțiuni la criostat. Raportul dintre migrația leucocitară în prezența și absența antigenului a constituit indexul de migrație, care a fost exprimat cantitativ. Determinările au fost executate concomitent cu proba ferestrei cutanate. Ambele procedee au demonstrat un strîns raport între tipul de reacție și stadiul bolii (cancer intraepitelial, cancer nemetastazat, cancer metastazat). Cancerele incipiente prezentau un index de migrație ridicat (<75), care se poate menține cel puțin doi ani după practicarea cu succes a mastectomiei. Metastazele, recidivele și radioterapia sînt de cele mai multe ori însoțite de un index de migrație scăzut (>75). Executarea reacției cu tumoare de la altă pacientă n-a dat rezultate pozitive în cazul formelor invazive, ci numai în cazul unor forme intraepiteliale. Ultima observație pledează în sensul unei anumite comunități antigenice între diferitele tumori maligne.

Scanned with OKEN Scanner

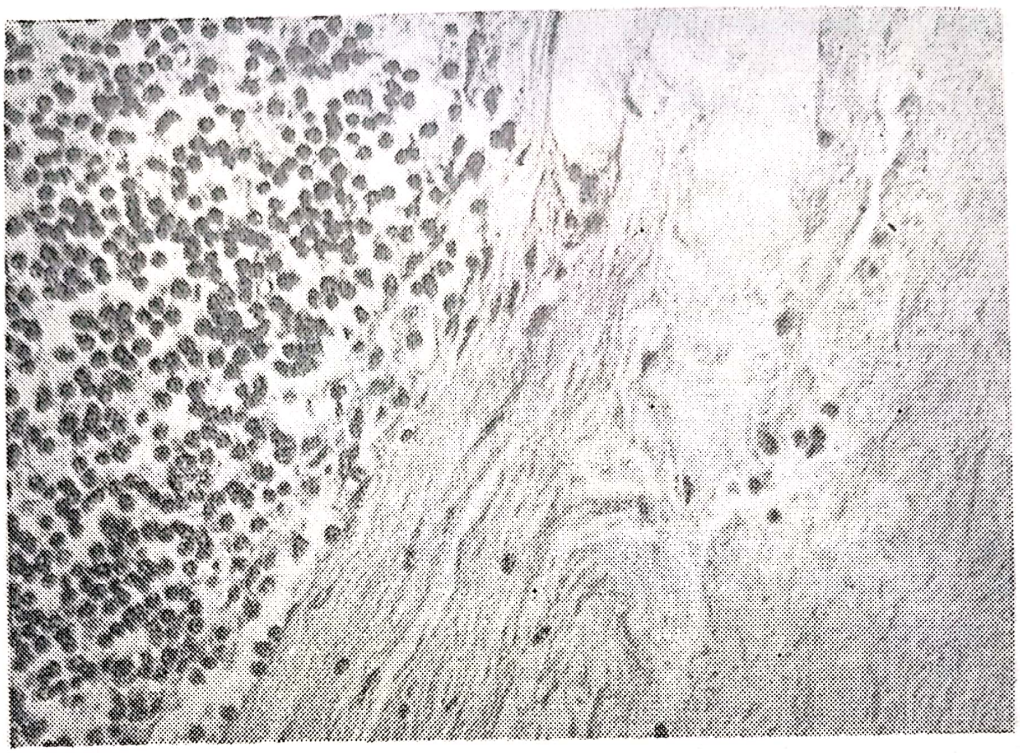


Fig. 96. — Ganglion limfatic axilar pus în contact, în culturi de organe, cu țesut tumoral autolog. Se observă alipirea celor două fragmente și ușoară migrație de limfocite în fragmentul tumoral. Col. H-E. (după Chiricuță, Cornelia Todoruțiu și colab., 1975).

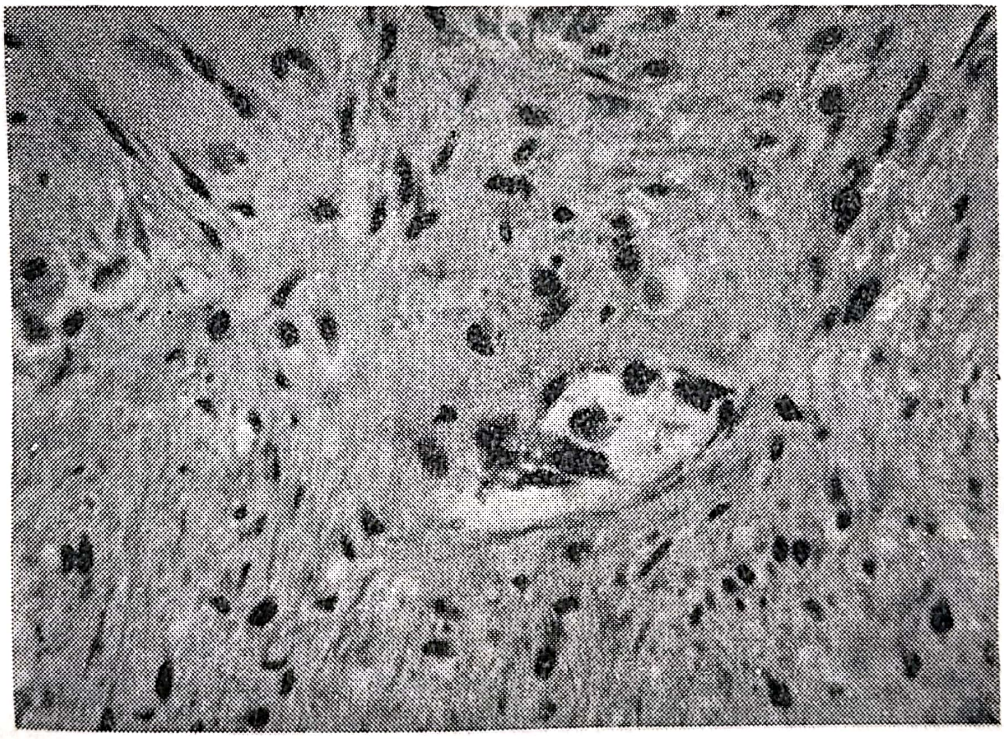


Fig. 97. — Reacție inflamatorie la nivelul explantului tumoral. Col. H-E (după Chiricuță, Cornelia Todoruțiu și colab., 1975).

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 98. — Invadarea masivă a explantului tumoral de către limfocitele ganglionare, după 48 de ore de cultură. Col. H-E (după Chiricuță, Cornelia Todoruțiu și colab., 1975).

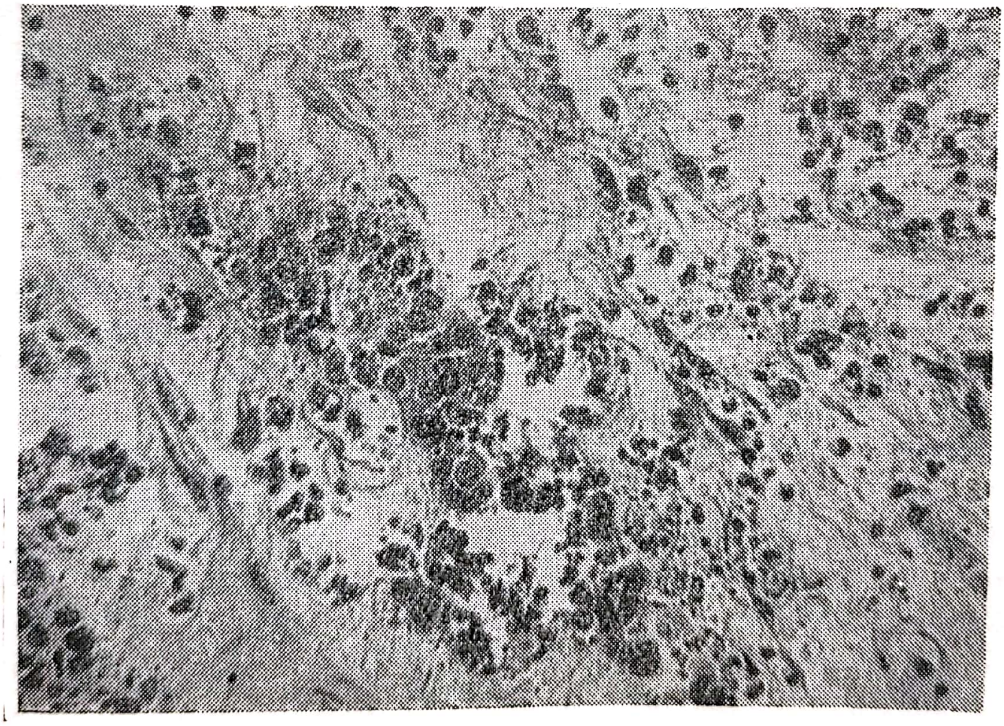


Fig. 99. — Zone de necroză a explantului tumoral, consecutive invaziei de către limfocitele ganglionare. Col. H-E (după Chiricuță, Cornelia Todoruțiu și colab., 1975).

Scanned with OKEN Scanner

Rezultate asemănătoare au fost obținute și de Perlin și colab. (1975), care au utilizat testul de migrare a leucocitelor. Punerea în evidență a unor reacții încrucișate între paciente i-a condus pe acești autori la părerea că unele tumori mamare posedă antigene comune.

Grosser și Thomson (1975) au demonstrat sensibilizarea leucocitelor față de tumoarea mamară proprie prin *testul inhibiției aderenței leucocitare*, bazat pe fenomenul diminuării aderenței leucocitelor de suprafața sticlei în prezența antigenului față de care sînt sensibilizate. O apreciabilă inhibiție a aderenței în prezența extractului tumoral a fost obținută la majoritatea pacientelor cu cancer mamar. Și în acest caz, formele diseminate au prezentat o inhibiție negativă; același fenomen a fost observat imediat după intervenția chirurgicală sau în urma radioterapiei.

În căutarea acestor antigene, extractele proteice de țesut mamar canceros sau normal au fost *eluate* prin incubarea secțiunilor în ser fiziologic tamponat. Eluatele, clarificate prin centrifugare și filtrare au fost supuse electroforezei în gel de poliacrilamidă, obținîndu-se în 8 din 18 cazuri o bandă proteică distinctă, care n-a fost regăsită niciodată în cazul glandei mamare normale. Cazurile pozitive prezentau de obicei o importantă reacție limfohistiocitară (Black și colab., 1976). În mod similar, Hollinshead și colab. (1974), utilizînd și ei electroforeza în gel de poliacrilamidă în studiul extraselor de țesut canceros, tumoral benign și normal mamar, au reușit separarea unui compus proteic în cazurile de cancer, foarte asemănător ca modalitate de migrație cu cel obținut de Black. Cu acest compus s-au obținut reacții de hipersensibilitate la paciente cu cancer mamar. Bazîndu-se pe dozarea radioimunologică a antigenului carcinoembrionar în serul pacientelor cu cancer, în comparație cu femei cu mastoză, Henry și colab. (1976) susțin că, față de o concentrație normală la ultimul grup, antigenul apare crescut la 8% din pacientele în stadiile I și II și 54% din cele în stadiile III și IV. În cazul recidivelor, procentul urcă la 92 iar în cazul metastazelor extraganglionare, pînă la 82—94. Menținerea ridicată a concentrației antigenului în ciuda tratamentului sugerează iminența recidivelor. Autorii recomandă testul în scopul precizării prognosticului, ca și al stabilirii eficienței tratamentului, în special a chimioterapiei.

Cu totul diferite de lucrările menționate pînă acum sînt afirmațiile lui Springer și colab. (1976), conform cărora la nivelul țesutului mamar canceros, spre deosebire de cel nemalign, se poate pune în evidență constant antigenul T (Thomsen-Friedenreich), precursor al antigenelor sistemului de grupe sanguine MN. În același timp, la 21% dintre paciente sînt foarte scăzuți anticorpii anti-T, prezenți la toate persoanele normale.

Ca și în alte forme de cancer, s-a putut evidenția scăderea progresivă a numărului limfocitelor (Papatestas și colab., 1976), în special a limfocitelor T (Whitehead și colab., 1976), în funcție de stadiul bolii. Ambele

aspecte prezintă valoare prognostică. După Stein şi colab. (1976), capacitatea limfocitelor de a se transforma blastic sub acţiunea PHA scade încă din fazele timpurii ale bolii; în faze mai avansate dispare reactivitatea cutanată la PPD şi DNCB. Beattie (1977), apreciind valoarea diferitelor teste de evaluare a imunităţii la paciente cu cancer mamar, în vederea aplicării unui tratament cu BCG, insistă asupra importanţei unui indice normal de transformare blastică a limfocitelor ca expresie a unei bune reactivităţi.

Ca o concluzie la toate aceste observaţii, Black (1976) arată că dacă toate cancerele mamare ar fi similare în privinţa comportării lor biologice, rezultatele diferitelor cercetări epidemiologice, virologice, biochimice, imunologice sau terapeutice ar trebui să fie mai uniforme. Diferenţele pot fi datorite şi intervenţiei, în anumite cazuri, a unor factori exogeni sau endogeni. Ţinînd seama de aceste consideraţii, rezultă de fapt că fenomenele imune au un rol semnificativ în comportarea biologică a cancerului mamar la diferite paciente. Variază în special antigenicitatea tumorii şi intensitatea reacţiilor specifice de hipersensibilitate întîrziată. Întrucît ambele fenomene au o expresie maximă în stadiul preinvaziv, aplicarea unor metode imunoterapeutice pare foarte potrivită în fazele precoce ale bolii şi mai puţin eficace în fazele avansate.

4. ANTICORPII LA PACIENTE CU CANCER MAMAR

În capitolul precedent, menţionîndu-se că nu există modificări importante ale capacităţii de reacţie prin anticorpi şi a comportării imunoglobulinelor la pacienţi cu tumori obişnuite, nelimfomatoase, s-a subliniat observaţia lui Chiricuţă, Doina Ionescu şi Titus Mureşian (1971) asupra unei comportări interesante a IgG la paciente cu cancer mamar. La astfel de paciente operate, o scădere apreciabilă a IgG precede de obicei cu cîteva luni apariţia recidivelor sau a metastazelor, avînd o semnificativă importanţă prognostică. Rezultată la început din studiul a 100 de paciente, observaţia a fost confirmată prin examenul repetat al electroforezei serice a 546 de paciente cu cancer mamar, în comparaţie cu 43 de paciente cu tumori mamare benigne şi 80 de femei aparent sănătoase, pe un interval de 2—7 ani.

Printre 408 paciente fără metastaze la distanţă, 383 (93,88%) au prezentat un nivel normal sau uşor crescut al IgG, faţă de 25 (6,12%), cu un nivel scăzut. Aceasta în contrast cu 138 de paciente cu metastaze la distanţă (pulmonare, osoase, hepatice), dintre care numai 28 (20,28%) prezentau nivel normal sau crescut, în timp ce majoritatea (110=79,72%) prezentau valori scăzute. La pacientele cu tumori benigne valorile erau normale sau uşor crescute. Aceste rezultate recomandă executarea exa-

Scanned with OKEN Scanner

menului imunoelectroforetic al serului la pacientele cu cancer la interval de 3—6 luni, pentru previziunea recidivelor sau metastazelor (fig. 100). Dostalova şi colab. (1976) au găsit, de asemenea, IgG scăzute la paciente cu cancer mamar şi metastaze în diferite organe, spre deosebire de formele care se menţin într-un stadiu regional, unde ele sînt mai degrabă crescute.

Această observaţie coincide cu una din cele mai interesante descoperiri făcute în ultimii ani în domeniul tumorilor maligne şi al imunologiei:

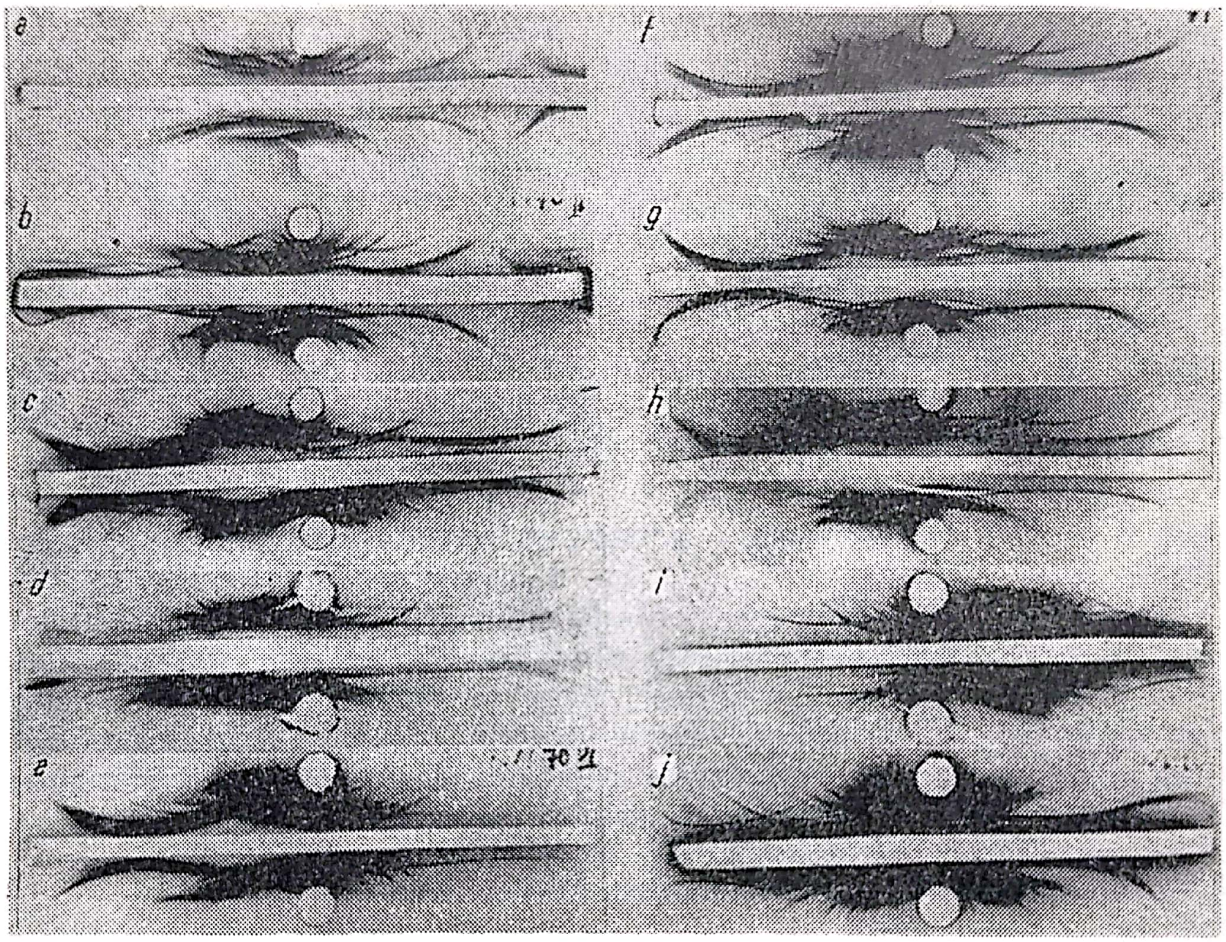


Fig 100. — Aspectul imunoelectroforezei serice la bolnave cu cancer de sîn (sus), comparat cu serul normal de om (jos): +) — creştere; (—) — scădere.

Bolnava M. M., în vîrstă de 38 de ani, mastită carcinomatoasă (a-e): *a)* preoperator: creşterea grupului 2-globulinelor, siderofilinei şi IgG; *b*) postoperator, la 3 zile interval: IgG (+); IgM (+); *c*) postoperator, la o lună interval: IgC (—); IgM (+); *d*) postoperator, după 4 luni: acelaşi aspect, cu scăderea pronunţată a IgG; *e*) postoperator la 6 luni: *n* — momentul diagnosticării metastazelor: IgG (—); IgM (—).

Bolnava D. M., în vîrstă de 47 de ani, adenocarcinom mamar (*f—h*): *f*) înainte de tratament: IgG (+); IgM (+); *g)* preoperator: IgG (+); IgM (+); *h*) la 3 zile după operaţie: IgG (—); la o lună după operaţie face metastaze pleurale şi pulmonare cu IgG (—).

Bolnava P. S., în vîrstă de 52 de ani, adenocarcinon mamar (*i—j*); *i*) preoperator: IgG (+); IgM (+); *j*) doi ani postoperator: IgG (—); IgM (—); prezintă metastaze generalizate (după Chiricuţă, Doina Ionescu şi Mureşian, 1971).

prezența la nivelul celulelor tumorale a unor receptori pentru fracțiunea cristalizabilă (Fc) a Ig, așa cum se găsesc în mod normal numai la nivelul limfocitelor B și macrofagelor. Descoperirea derivă din observațiile mai vechi asupra proprietății tumorilor solide experimentale (Humphrey, 1967; Milgram și colab., 1968) sau umane (Thunold și colab., 1970; Tønder și Thunold, 1973) de a absorbi eritrocitele sensibilizate cu IgG. La baza fenomenului stă o reacție imunologică nespecifică, mediată prin porțiunea Fc a moleculei de anticorp. Afinitatea celulei tumorale pentru Fc este mai puternică cînd IgG este combinată cu un antigen, decît față de imunoglobulina izolată.

Într-o lucrare recentă, Tønder, Humphrey și Morse (1975) au studiat prezența receptorilor Fc la nivelul a douăzeci de tumori maligne solide de tip histologic variat, folosind secțiuni la criostat sau suspensii de celule izolate. Ca indicatori au fost utilizate eritrocite de oaie sensibilizate prin diverse concentrații de anticorpi IgG de iepure. Determinarea s-a făcut comparativ cu tumori benigne sau țesuturi normale provenite de la persoane sănătoase decedate accidental. Rezultatele au confirmat existența receptorilor Fc în țesuturile canceroase umane. Pe lîngă punerea lor în evidență pe secțiuni la criostat, ei au fost demonstrați și în suspensii de celule tumorale. Toate tumorile examinate posedau o anumită cantitate de receptori, opt dintre ele reacționînd mai puternic decît limfocitele splenice normale, fără să existe în acest sens o corelație aparentă cu un anumit tip histologic. Tumorile care dădeau cele mai puternice reacții pe secțiune, produceau cel mai ridicat număr de rozete în suspensie, indicînd localizarea superficială a receptorilor. Singurele țesuturi normale care au reprodus fenomenul au fost splina și, într-o oarecare măsură, ficatul. Reacția era suprimată de tratarea secțiunilor sau suspensiilor cu antiserul respectiv. Receptorii Fc ai celulelor tumorale apar foarte asemănători celor prezenți pe suprafața limfocitelor B. Ca și aceștia, conțin o importantă componentă fosfolipidică și preferă complexele antigen-anticorp pe baza de IgG. Legăturile formate sînt distruse de majoritatea fixatorilor. Neuraminidaza stimulează funcția receptorilor ambelor categorii de celule. În concepția lui Green (1976), studiul receptorilor Fc de pe suprafața celulelor tumorale ar putea servi ca criteriu de clasificare și diagnostic al neoplasmelor.

Pentru dispariția anticorpilor în fazele avansate de boală pledează și lucrările lui Humphrey și colab. (1974), care au pus în evidență, prin metode de imunodifuziune sau fixare de complement, anticorpi față de un antigen concentrat din tumoarea mamară. Acești anticorpi au fost găsiți la 46 de paciente cu cancer mamar, la 34% din 96 de paciente cu mastoză fibrochistică și la 25% din 44 de paciente cu adenofibrom. Un procent de 1,5 din 206 femei aparent sănătoase au prezentat reacția de imunodifuziune pozitivă. Dintre 13 paciente cu metastaze ganglio-

Scanned with OKEN Scanner

nare şi reacţii serologice negative, 11 au decedat în primele 12 luni după mastectomie, spre deosebire de paciente cu acelaşi stadiu clinic, dar cu reacţii serologice pozitive, din care 15 din 18 au supravieţuit cel puţin 24 de luni. Prin aceasta, testul preconizat de autori pare să aibă o valoare prognostică, fără a putea însă constitui un test de depistare a formelor precoce de cancer.

În sfîrşit, şi în sîngele bolnavelor cu cancer mamar s-au evidenţiat complexe imune cu posibilă acţiune blocantă. Înainte de intervenţia chirurgicală toate pacientele prezentau niveluri ridicate de astfel de complexe imune, determinate prin radioimunoprecipitare cu ^{125}I, sugerînd că antigenele tumorale induc producerea de anticorpi, cu care formează apoi complexe. La 20 de luni după mastectomie s-au găsit diferenţe semnificative între pacientele fără recidive şi metastaze, la care aceste complexe dispăreau, şi cele cu metastaze, la care ele se menţineau la un nivel ridicat (Hoffken, Baldwin şi colab., 1977).

5. IMPLICAŢII IMUNOLOGICE ALE TERAPIEI

Importanţa unei reacţii imune eficiente pentru evoluţia bolii, subliniată de faptele prezentate în toate localizările cancerului, dar asupra căreia se insistă în special în cancerul mamar, impune precauţiuni deosebite cînd se instituie tratamente imunodepresive, cum sînt radioterapia şi chimioterapia.

În cazul cancerului mamar, frecvenţa mare a bolii şi unele succese obţinute prin ameliorarea metodelor de diagnostic, în contrast cu rezultatele terapeutice care nu sînt la înălţimea eforturilor depuse, au determinat o analiză mai atentă a problemei.

Jan Stjernswärd (1972, 1974) a supus unei riguroase examinări efectele radioterapiei postoperatorii, a cărei eficienţă în prevenirea recidivelor locale şi regionale o recunoaşte de la început. El atrage atenţia că cu toate acestea, nu s-au obţinut rezultate statistice semnificative asupra unui efect favorabil al aplicării metodei în ceea ce priveşte supravieţuirea pacientelor. Discutînd această problemă, specialiştii trag de obicei concluzia că sînt necesare noi studii pentru a o clarifica. După Stjernswärd, există cel puţin 6 statistici în care supravieţuirea bolnavelor a fost mai redusă la lotul iradiat cu 1 pînă la 10%. Cauza principală a mortalităţii crescute la grupul iradiat ar fi efectul iradierii asupra imunităţii, după cum reiese din studiul comportării leucocitelor, limfocitelor şi monocitelor, consecutiv iradierii. Iradierea produce o leucopenie care durează cel puţin un an, mergînd în medie de la 6 800 leucocite/mmc înainte de iradiere, la 4 700 imediat după iradiere şi la 5 500 la un an după iradiere. În cadrul acestei leucopenii este în special caracteristică limfopenia care poate merge de la 2 000 celule/mmc la respec-

tiv 1 200 și 1 600, menținîndu-se cel puțin doi ani după iradiere. Această limfopenie se produce în special pe socoteala limfocitelor T. Față de martori, care prezintă o proporție de 60% limfocite T și 32% limfocite B, pacientele cu cancer mamar operat și iradiat prezentau la un an după iradiere o reducere a limfocitelor T pînă la 45%, cu creșterea compensatorie a limfocitelor B pînă la 52%.

Referitor la originea acestei limfopenii selective pe linia T, Stjernswärd se gîndește la repercusiunile iradierii a jumătate din țesutul timic, care primește în 16 zile cel puțin 2 000—2 400 razi. Miller (1962) menționase importanța timectomiei executate la animale adulte asupra refacerii imunității organismului după iradiere subletală. În organismul uman adult, cu un timus pe cale de atrofie, efectul iradierii poate avea consecințe și mai evidente. Se mai ridică încă o problemă: iradierea determină modificări structurale ale limfocitelor, care induc fenomene autoimune (în serul persoanelor iradiate au fost puși în evidență factori serici de natură proteică, capabili să inducă alterări ale limfocitelor, cu modificări cromozomiale). Într-o situație caracterizată prin existența unor resturi minime de celule tumorale, care ar putea genera metastaze, alterarea imunității produsă de iradiere ar putea fi responsabilă de lipsa reacției organismului față de aceste celule. Din această cauză, utilizarea iradierii în forme de cancer fără metastaze sau numai cu metastaze regionale, trebuie riguros verificată printr-un studiu comparativ pe loturi mari de paciente, observate cel puțin 5 ani (fig. 101).

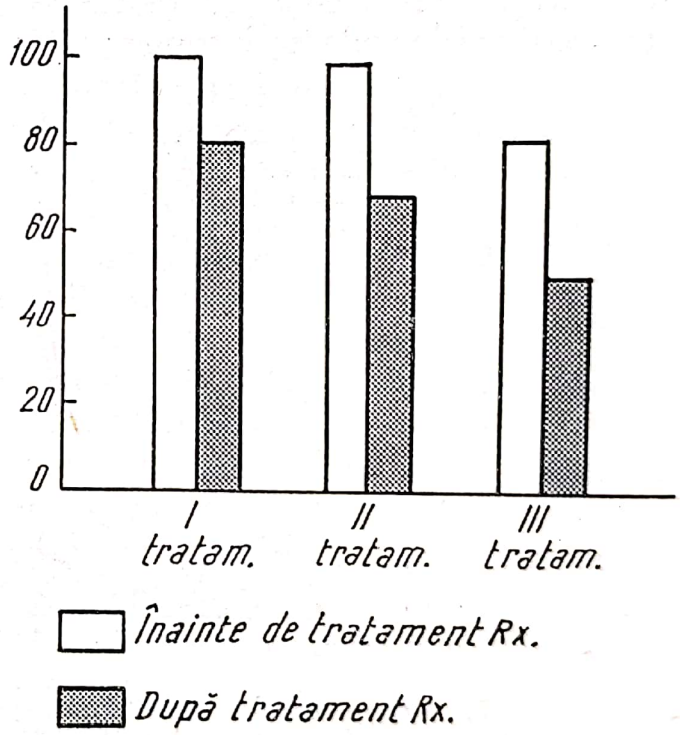


Fig. 101. — Limfocite T la paciente cu cancer mamar (stadiul I—III), înainte și după tratament (după Monica Crișan, 1975).

Whitehead și colab. (1976) au constatat de asemenea o semnificativă scădere a procentului de limfocite T la pacientele cu cancer mamar, în toate stadiile bolii. În mod surprinzător, acest fenomen era mai puțin pronunțat la paciente aflate în stadiul III, ca și cum ele ar constitui un grup biologic distinct. Limfocitele B prezintă valori simi-

Scanned with OKEN Scanner

lare în toate stadiile bolii. Numărul celulelor producătoare de rozete spontane revine la normal după incubare cu papainã, dar se reduce din nou dacă se tratează suspensia de limfocite cu serul propriu. Această observaţie îi determină pe autori să presupună existenţa în serul pacientelor cu cancer mamar a unui factor cu acţiune mascantă, care aderă de suprafaţa limfocitelor T şi poate fi înlăturat prin digestie cu papainã. El ar putea fi similar cu factorul descris de Whittaker şi colab. (1971) în serul aceloraşi paciente şi caracterizat prin acţiunea inhibitoare asupra transformării blastice sub acţiunea PHA.

Importanţa imunităţii în evoluţia cancerului mamar este subliniată şi de rezultatele favorabile obţinute prin stimularea nespecifică a imunităţii. Pornind de la considerentul că o stimulare prelungită a imunităţii imediat după intervenţia operatorie, urmată de o stimulare intermitentă postoperatorie ar putea contribui la creşterea rezistenţei organismului împotriva tumorii, I. Chiricuţă şi colab. (1974) au utilizat stimularea cu Polidin (vaccin polibacterian). Autorii se bazau pe rezultate experimentale concludente (I. Chiricuţă, Cornelia Todoruţiu, T. Mureşian, R. Rişcă), care demonstrau reducerea semnificativă a indicelui de metastazare după inocularea intravenoasă a tumorii Ehrlich în urma stimulării

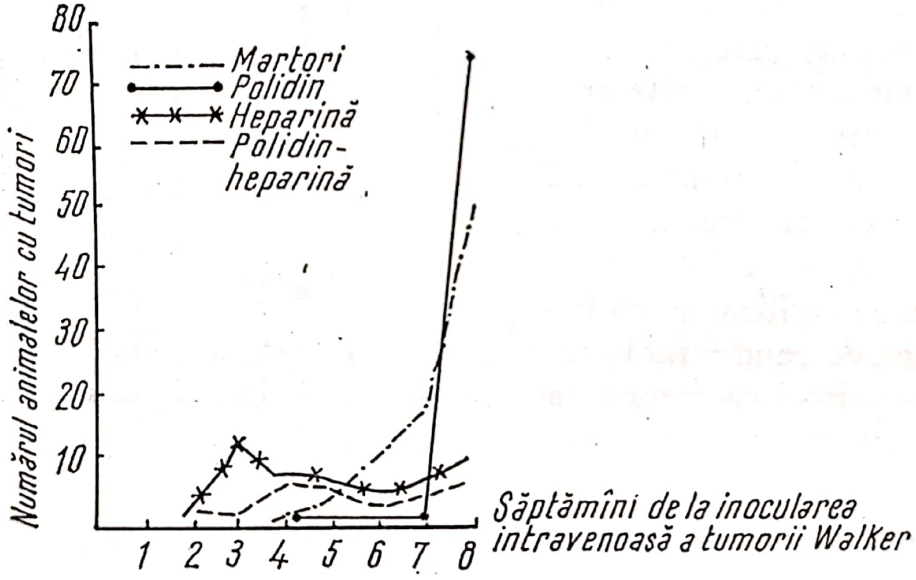


Fig. 102. — Efectul vaccinării experimentale cu Polidin (după Chiricuţă, Cornelia Todoruţiu, Titus Mureşian şi Rodica Rişcă, 1972).

cu Polidin. Prin imunostimulare iniţiată înaintea inoculării tumorale se prelungeşte remarcabil perioada de latenţă a metastazelor, fără modificarea semnificativă a incidenţei metastatice finale (75%), faţă de martori (83%). Dacă acest tratament cu Polidin se administrează timp îndelungat (1 an), incidenţa metastatică scade la 30% (fig. 102).

Studiindu-se influenţa imunoterapiei nespecifice aplicată la diferite perioade de timp după inocularea tumorală (carcinom Ehrlich) asupra incidenţei metastatice (I. Chiricuţă, Cornelia Todoruţiu, Rodica Rişcă), s-a observat că dacă stimularea nespecifică este începută în primele două săptămîni după inocularea grefei intravenoase, efectul imunostimulării asupra descreşterii incidenţei metastatice este evident favorabil şi induce o prelungire a timpului de supravieţuire. Astfel, dacă imunostimularea începe la 7 şi respectiv 14 zile după grefa tumorală, se obţine o profilaxie eficientă a metastazelor (29% şi 37%). Aşadar nu este necesar ca stimularea să preceadă grefa tumorală; există o perioadă favorabilă de aproximativ două săptămîni de la grefa tumorală, cînd imunoterapia poate fi aplicată. După această perioadă, în care probabil că trombii tumorali generează deja metastaze bine definite, tratamentul imunostimulant este ineficient. Astfel, dacă imunoterapia este începută la 30 şi respectiv 45 de zile după grefa tumorală intravenoasă, incidenţa metastatică (47% şi 49%) se apropie de cea a martorilor (62%). Indexul de metastazare este şi mai coborît dacă se asociază stimularea prin Polidin cu administrarea de heparină, fie numai 10 zile după grefa tumorală (28%), fie *à long terme* (1 an) (15%). Tratamentul anticoagulant previne formarea trombilor tumorali în patul arteriolo-capilar şi astfel celulele tumorale sînt obligate să circule un timp mai îndelungat într-un organism cu un sistem reticulo-endotelial stimulat. Aceste cercetări experimentale arată că în profilaxia experimentală a metastazelor există o netă superioritate în asocierea imunostimulării cu terapia anticoagulantă.

Chiricuţă şi colab. au încercat să utilizeze aceste concluzii experimentale în clinica umană pentru profilaxia metastazelor induse prin diseminarea intraoperatorie a celulelor canceroase în cancerul mamar. Este binecunoscut faptul că în decursul actului operator numărul celulelor tumorale creşte în circulaţia sanguină. Unele dintre aceste celule vor genera metastaze. Autorii consideră că un tratament imunologic înaintea intervenţiei chirurgicale ar fi foarte util. Acest tratament imunologic nespecific trebuie continuat după operaţie o perioadă mai lungă, de la 1 la 2 ani. De asemenea, ar fi util să se aplice o heparinoterapie moderată după operaţie cît mai curînd posibil. Metastazele existente anterior actului operator vor rămîne fără soluţie eficientă, urmînd a fi tratate prin chimioterapie.

Studiul microscopic al unui nodul de permeaţie apărut la o pacientă tratată în modul arătat, demonstrează existenţa unor evidente modificări în sensul unei rezistenţe active a organismului. Ţesutul neoplazic apare înconjurat de o puternică barieră conjunctivă care pătrunde printre ele. Interstiţial se constată de asemenea bogate infiltrate limfoplasmocitare, în timp ce în numeroase puncte, celulele tumorale prezintă

Scanned with OKEN Scanner

avansate fenomene de distrofie, care duc la apariţia de focare de necroză infiltrate cu limfocite, macrofage şi polinucleare.

Rezultate deosebit de favorabile au fost obţinute prin imunoterapie nespecifică la paciente cu cancer mamar prin administrare de Levamisol. Acest izomer levogir al tetramisolului, cunoscut prin acţiunea sa antihelmintică, a fost introdus în imunoterapie de către Renoux şi Renoux (1971), care au demonstrat excepţionalele sale calităţi de stimulare a imunităţii deprimate şi de reglare a unei imunităţi deranjate. Prin descoperirea unei substanţe sintetice capabile să stimuleze energic imunitatea deprimată, în special componenta celulară a acesteia, Levamisolul deschide un capitol nou în terapie, acela al imunostimulenţilor de sinteză. Pe lîngă rezultate favorabile în tratamentul diferitelor boli infecţioase acute şi cronice, ca şi al bolilor imunologice, Levamisolul s-a dovedit eficient în tratamentul tumorilor maligne, în special în cancerul mamar şi bronhopulmonar sau melanom.

Astfel Rojas şi colab. (1976) au tratat cu această substanţă 20 de paciente cu cancer mamar inoperabil (stadiul III) la sfîrşitul unei iradieri efectuate timp de două luni cu 11 000 razi, în trei cîmpuri. S-au administrat 150 mg/zi, 3 zile consecutiv, la interval de o săptămînă, pînă la ameliorarea evidentă a simptomelor clinice şi de laborator (cel puţin 6 luni). Faţă de 23 de paciente în acelaşi stadiu, care au fost tratate numai prin radioterapie, la pacientele tratate cu Levamisol perioada liberă de recidivă a prezentat o prelungire semnificativă (25 faţă de 9 luni), ca şi supravieţuirea — 90%, faţă de 35%, la 30 de luni după terminarea radioterapiei. Evidenta stimulare a imunităţii produsă prin aplicarea Levamisolului rezultă din pozitivarea şi creşterea intensităţii intradermoreacţiilor la dinitroclorbenzen sau candidină, fenomen care nu apare la pacientele care au prezentat recidivă. Pozitivarea reacţiei la DNCB ar reprezenta cel mai adecvat criteriu de apreciere a eficienţei tratamentului, permiţînd întreruperea lui. În ciuda unor fenomene secundare survenite la un număr restrîns de paciente (agranulocitoză, reacţii alergice), Levamisolul apare la ora actuală ca cel mai energic agent capabil să stimuleze imunitatea deficientă a pacientelor cu cancer, în special cu formele menţionate, şi să producă importante remisiuni ale bolii, subliniind perspectivele imunoterapiei bolii canceroase.

B. CARCINOMUL DE COL UTERIN

Esenţa raportului dintre imunitate şi cancerul colului uterin, cea mai frecventă tumoare malignă a femeii într-un mare număr de ţări, constă în posibila etiologie virală a acestei localizări.

S-a arătat în legătură cu tumorile umane cu presupusă etiologie virală, că anticorpii neutralizanţi faţă de virusul herpetic tip 2, care pro-

Scanned with OKEN Scanner

duce herpesul genital, sînt mult mai frecvent găsiți la femei cu cancer al colului uterin decît la femeile sănătoase. Această situație se întîlnește nu numai în cazul formelor invazive, dar și al celor intraepiteliale și chiar în displazii. S-a obiectat că ar fi vorba de o coincidență, întrucît o viață sexuală dezordonată, cu schimbarea frecventă a partenerului, ar favoriza, independent una de alta, atît apariția cancerului, cît și infecția herpetică. Studii recente foarte riguroase au arătat însă că o legătură etiologică între infecția herpetică și cancerul de col este foarte plauzibilă (Melnick, 1976).

De exemplu, utilizarea unor tehnici de imunofluorescență a permis punerea în evidență a antigenelor herpetice în celulele descuamate de la nivelul leziunilor canceroase ale colului. Aceleași antigene au fost detectate și în celulele provenite din leziuni carcinomatoase intraepiteliale și chiar displazice. Din aceste celule, virusul a putut fi recuperat și cultivat (Royston și Aurelian, 1970), el fiind capabil să producă transformarea malignă a culturilor de țesuturi de hamster. Din membrana celulelor cervicale, vaginale sau vulvare s-a izolat un antigen solubil care reacționează cu antiserul preparat la cobai față de virusul herpetic tip 2. Serul unui mare număr de paciente cu cancer pavimentos genital reacționează prin fixare de complement față de acest antigen (ca și al pacientelor cu cancere pavimentoase ale capului și gîtului), în contrast cu o foarte redusă pozitivitate printre persoanele sănătoase. Cu același antigen la pacientele respective se pot produce intradermoreacții pozitive sau se obține inhibiția migrării leucocitelor (Hollinshead și colab., 1974, 1976). Serul pacientelor cu cancer cervical reacționează într-o proporție semnificativ mai mare față de al martorilor, cu substanțe proteice apărute în celulă în urma infecției herpetice, după cum s-a demonstrat prin metode de precipitare radioimună indirectă (Melnick și colab., 1976). Toate aceste rezultate sprijină ipoteza după care infecția cu acest virus, produsă timpuriu în cursul vieții, induce apariția leziunii maligne mult timp mai tîrziu.

Dintre rezultatele menționate, sînt în special interesante ultimele, care pun în evidență prezența la pacientele cu cancer de col uterin a unor anticorpi față de structuri polipeptidice specifice, care apar rapid în celulă, în urma infecției cu virusul herpetic. Pacientele respective nu prezintă în schimb anticorpi față de forma completă a virusului. În legătură cu acest aspect, s-ar putea determina în viitor riscul relativ la cancer de col la femei cu sau fără infecții aparente cu virus herpetic și s-ar putea stabili valoarea diagnostică sau prognostică a acestor anticorpi față de antigenele virale sau nevirale. Astfel s-ar putea selecționa femei cu risc crescut de a face cancer de col, care să fie supuse unei supravegheri mai atente.

Scanned with OKEN Scanner

Studii asupra hibridizării între ADN-ul virusului herpetic şi celulele din cancerul cervical, cu o singură excepţie, n-au putut pune în evidenţă acest fenomen. Mai mult, nu s-a reuşit depistarea acestui ADN în celulele de rozătoare malignizate sub acţiunea virusului herpetic, existînd în acest sens o diferenţă esenţială de comportare faţă de alte virusuri herpetice oncogene (Epstein-Barr, Marek, Saimiri). S-ar putea însă ca ameliorarea condiţiilor tehnice să rezolve această problemă (zur Hansen, 1976).

Infecţia genitală cu herpes-virusul tip 2 a femelelor de maimuţă Cebus a dus la apariţia de anticorpi şi modificări citologice ale mucoasei cervicale, caracterizate prin apariţia de celule gigante cu prezenţa de incluzii intranucleare (Palmer şi colab., 1976). La 13 din 225 de animale, aceste modificări au persistat 14 pînă la 50 de luni, nefiind întîlnite la nici una din cele 76 de femele care fuseseră inoculate cu material inert.

În concluzie, după cum arată Melnick (1970), în ciuda a numeroase studii, rolul etiologic al herpes-virusului tip 2 în determinarea cancerului de col rămîne să fie dovedit. Cea mai incontestabilă probă ar fi obţinută prin vaccinarea contra acestui virus a unei populaţii cu risc ridicat de îmbolnăvire. Dacă printr-o astfel de operaţie s-ar preveni sau măcar s-ar limita îmbolnăvirea prin cancer de col a populaţiei respective, aşa cum s-a întîmplat în cazul vaccinării contra limfomatozei Mareck a păsărilor, rolul herpes-virusului ar fi demonstrat.

În legătură cu această problemă, Nahmias şi colab. (1976) consideră că există mai multe niveluri unde factorii imuni pot acţiona împotriva apariţiei şi progresului neoplaziei cervicale: a) eliminarea primelor celule malignizate; b) prevenirea depăşirii membranei bazale; c) prevenirea extensiei locale şi a diseminării metastatice. Revenirea la normal a displaziilor cervicale şi progresul lent al displaziei în cancerul intraepitelial şi în cancerul invaziv ar fi condiţionată de reacţia imună a organismului, care ar fi deprimată în anumite momente. Acest lucru a fost afirmat, pe baza observaţiilor microscopice, de către Coppelson şi Reid (1967): în cele mai multe displazii, carcinoame intraepiteliale sau microinvazive se întîlnesc infiltrate inflamatorii mononucleare şi celule fagocitare. Deşi de obicei infiltratele inflamatorii erau dispuse sub membrana bazală, uneori aveau o poziţie între această membrană şi celulele displazice sau neoplazice şi infiltraţia cu mononucleare ajungea chiar pînă în porţiunile superficiale ale epiteliului, mai ales în jurul unor capilare intraepiteliale, a căror existenţă constituie, după Moricard şi Marroum-Ghona (1969), un semn precoce de invazie. Aderenţa evidentă a mononuclearelor de celule neoplazice distrofice sau necrotice, adesea observată în carcinoamele intraepiteliale şi microinvazive, subliniază semnificaţia imună a acestor infiltrate. De fapt Boyd (1963) insistase mai demult asupra faptului că infiltratul inflamator din corionul carcinomului intraepitelial al colului exprimă rezistenţa organismului împotriva neoplaziei, fapt pe

care l-am sugerat și noi într-o lucrare anterioară (Chiricuță și colab., 1972) (fig. 103).

O expresie a rezistenței active a acestor paciente sînt și testele cutanate pozitive față de membranele celulelor canceroase (Hollinshead, 1973). Punerea în evidență, prin tehnici de imunodifuziune, a unor anti-

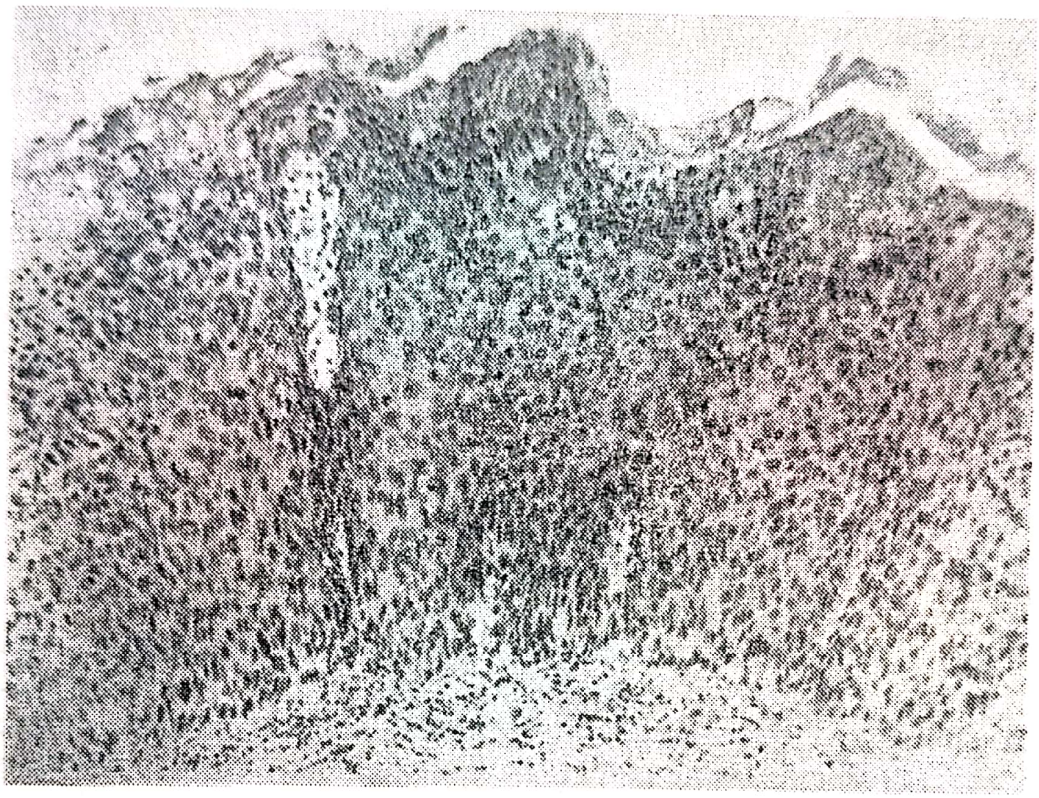


Fig. 103. — Infiltrat inflamator în corionul unui carcinom intraepitelial al colului uterin, col. H-E.

corpi față de substanțe antigenice extrase din tumoarea cervicală, indică și ele specificitatea acestor fenomene de rezistență și sensibilizare (Levi, 1971); de asemenea, limfocitele acestor paciente produc, în culturi, citoliza celulelor tumorale respective (Di Saia și colab., 1972), citoliză care poate fi amplificată prin adăugare de complement (Weintraub și colab., 1973). Creșterea titrului anticorpilor neutralizanți față de virusul herpetic tip 2, asociată cu scăderea anticorpilor dependenți de complement pe măsura progresului neoplaziei, evidențiază, odată mai mult, o anumită relație etiologică a virusului respectiv. În fazele avansate ale bolii, ca și în alte localizări ale cancerului, reactivitatea organismului la diferite antigene (candidină, streptokinază-streptodornază este mult diminuată sau chiar dispărută, în comparație cu pacientele cu forme incipiente (Nalick și colab., 1974).

Experiențele care arată că limfocitele de hamster inoculat cu celule canceroase malignizate de virusul herpetic sînt specific citotoxice față de

aceste celule (Laresch şi colab., 1975), precum şi faptul că aceste limfocite imune sînt capabile să detecteze transferul de material genetic al herpes-virusului din celulele maligne în celulele susceptibile de a fi transformate (Sprecher-Goldberger şi colab., 1974), oferă o bază experimentală tentativei de vaccinare în cancerul de col uterin; aceasta, însă, numai după ce rolul infecţiei herpetice în producerea tumorii sau cel puţin a unor cazuri va fi demonstrat în mod incontestabil, întrucît în ultimul timp s-au făcut cercetări care pun sub semnul întrebării semnificaţia rezultatelor serologice pozitive. De exemplu, Berdinskikh şi colab. (1976) au pus în evidenţă anticorpi fixatori de complement faţă de virusuri ARN oncogene în serurile a 72% dintre pacientele cu cancer ginecologic şi a 62% dintre cele cu tumori benigne ale organelor genitale. Aceşti anticorpi au fost însă găsiţi şi la 73% dintre persoanele sănătoase.

Posibilitatea controlului riguros al evoluţiei leziunilor prin examene citologice şi colposcopice periodice, care a dus la realizarea unui control eficient al cancerului de col uterin, va permite în viitorul apropiat şi rezolvarea problemei unei eventuale etiologii virale.

C. MELANOMUL MALIGN

Ca şi coriocarcinomul, melanomul malign este caracterizat de aspectul contradictoriu dintre malignitatea sa de multe ori sălbatică şi regresiunea spontană întîlnită în unele cazuri. În riguroasa lucrare a lui Everson (1966), melanomul este inclus între cele patru tumori maligne care formează majoritatea absolută a unor astfel de neoplazii vindecate spontan sau în urma unui tratament paleativ. Dintre 176 de cazuri, 19 (11%) au fost melanoame maligne. De cele mai multe ori regresiunea a interesat tumoarea cutanată şi metastazele ganglionare, dar uneori au existat şi semne de interesare viscerală. S-a observat producerea regresiunii în legătură cu o evidentă modificare imunologică sau hormonală, cum ar fi inflamaţia sau necroza tumorii în urma iradierii, infecţiile sau condiţiile presupunînd o modificare hormonală (instalarea sau terminarea unei sarcini). Într-un caz de regresiune persistentă după 12 ani, descris de Bulkley şi colab. (1975), prezenţa metastazelor hepatice fusese verificată histologic. Intervenţia imunităţii în regresiunea melanoamelor este sugerată şi de infiltratul limfoid constant prezent la nivelul acestor tumori (Payan şi colab., 1970).

Pe de altă parte, melanomul malign este singura tumoare cunoscută pînă acum care a putut fi transplantată la altă fiinţă umană (de la fiică la mamă). Reuşita transplantării a fost confirmată de evoluţia malignă, metastazantă, în noul organism (Scranton, 1965). În anumite condiţii, cum este sarcina, o relativă diminuare a imunităţii poate duce la ade-

vărate melanoze generalizate, cu diseminarea celulelor tumorale în toate organele, inclusiv în placentă (Holcomb şi colab., 1975).

Experienţe executate pe animale de Lewis şi colab. (1969) au arătat existenţa în celulele maligne tumorale a două tipuri de antigene, unele intracelulare, celelalte de suprafaţă, faţă de care se produc anticorpi serici. Antigenele de suprafaţă, cu funcţie de antigene de transplantare, sînt capabile să declanşeze reacţii predominant de tip celular, ducînd uneori la regresiunea tumorii. Aceste antigene au fost studiate, în cadrul unei rodnice colaborări, de cercetători americani şi sovietici. În S.U.A., Hollinshead şi colab. (1974) au testat 113 pacienţi cu melanom malign prin intradermoreacţii faţă de aceste antigene extrase din membrana celulelor tumorale. Aceste antigene au o structură proteică şi unul dintre ele are o înaltă specificitate dînd reacţii pozitive la 88% din pacienţii cu forme incipiente de melanom cutanat sau ocular şi la 37% din pacienţii cu forme avansate ale tumorii. În alte forme de cancer, ca şi în leziunile oculare care simulează melanomul, s-a obţinut o pozitivitate de 3%. Substanţa respectivă este o glicoproteină şi a putut fi extrasă, atît din tumorile melanice primitive, cît şi din cele secundare, prin electroforeză în gel de poliacrilamidă. O substanţă identică a fost izolată şi în Uniunea Sovietică de către Gorodilova (1974, 1975), la capătul unor lucrări îndelungate, începute de către Zilber, încă din 1956. Substanţa responsabilă de specificitatea reacţiilor cutanate este componenta glicoproteică. Injectată la iepuri încorporată în antigen Freund complet, determină formarea de anticorpi care pot fi puşi în evidenţă prin reacţii de imunoprecipitare. Scăderea reactivităţii faţă de acest antigen, pe măsura progresului bolii, coincide cu dispariţia reacţiilor de hipersensibilitate întîrziată la diferite antigene (tuberculină, streptokinază-streptodornază, DNBC) şi cu instalarea unei importante limfopenii (Lee şi colab., 1975).

Studiile lui Lewis şi colab. (1969) asupra anticorpilor din serul pacienţilor cu melanom malign au utilizat metode de imunofluorescenţă, precum şi metode de punere în evidenţă a capacităţii serului de a inhiba în prezenţa complementului creşterea celulelor tumorale. Cel puţin o treime dintre aceşti pacienţi prezintă anticorpi faţă de propriile celule tumorale. Anticorpii pot fi puşi în evidenţă în forme incipiente, nediseminate, şi dispar pe măsură ce tumoarea disemineaza. Pe lîngă anticorpi strict specifici, dirijaţi împotriva antigenelor de membrană, s-au pus în evidenţă şi anticorpi care reacţionează cu antigene intracitoplasmatice. Anticorpii antimembrană sînt mai ales IgM. În două cazuri, titrul acestor anticorpi a putut fi crescut prin inocularea intravenoasă a propriilor celule tumorale inactivate prin iradiere.

Cît priveşte scăderea şi dispariţia acestor anticorpi pe măsura diseminării bolii, s-a presupus la început o scădere a antigenicităţii celulelor

Scanned with OKEN Scanner

tumorale, care duce la o solicitare scăzută. Lucrările lui Isbister şi colab. (1975) au arătat că în aceste cazuri este vorba mai degrabă de apariţia unor factori blocanţi specifici. Ei au pus în evidenţă în limfa obţinută din canalul toracic al unui pacient cu melanom malign prezenţa unor factori blocanţi specifici tumorii respective. Aceşti factori inhibau capacitatea limfocitelor pacientului de a adera de celulele tumorale. Drenajul prelungit, cu îndepărtarea limfei şi reinocularea limfocitelor, a dus la scăderea pînă la dispariţie a activităţii blocante. Deşi tehnica aplicată n-a reuşit o prelungire substanţială a vieţii pacientului, care prezenta metastaze diseminate, unele modificări regresive ale metastazelor, observate la microscop, permit presupunerea că îndepărtarea factorilor blocanţi ar putea întări reacţia imună mediată celular.

Expresia clară a imunităţii antitumorale a determinat încercările terapeutice bazate pe stimularea acestei imunităţi. Morton şi Eilber (1970) utilizînd stimularea cu vaccin BCG pe pacienţi cu melanom malign, au obţinut importante creşteri ale titrului de anticorpi şi regresiuni ale tumorii, care persistau uneori mai mulţi ani. Există un raport între creşterea anticorpilor (apreciaţi prin metode de imunofluorescenţă şi fixare a complementului) şi regresiunea tumorii. Vaccinul a fost administrat intratumoral. Creşterea titrului de anticorpi era însoţită de intradermoreacţii pozitive pentru tuberculină. Uneori, BCG a fost aplicat şi la nivelul scarificării dermice. Ulterior, Lieberman şi colab. (1975), folosind inocularea intratumorală, au obţinut o reacţie favorabilă la 4 din 6 pacienţi cu melanom. Reacţia favorabilă era caracterizată prin regresiunea nodulilor tumorali injectaţi cu BCG, ca şi a altor noduli. Dintre aceştia, 3 au supravieţuit timp mai îndelungat, ceea ce a permis să se presupună o vindecare. La toţi 3 s-au pus în evidenţă reacţii imune active prin determinarea indicelui de transformare blastică a limfocitelor în prezenţa PHA sau a antigenului tumoral, a testului de inhibiţie a migrării leucocitelor şi a capacităţii de imunoaderenţă a limfocitelor.

Foarte interesante sînt rezultatele examinării microscopice, la diferite intervale, a ţesutului tumoral pe cale de regresiune. La 3 ore după injectarea intratumorală a BCG se observă modificări minime dar evidente, caracterizate prin alterarea raporturilor între celulele tumorale şi o infiltraţie cu polinucleare şi rare mononucleare. După 6 ore, intensificarea reacţiei inflamatorii indusă de BCG duce la necroze ale celulelor tumorale, cu eliberare de pigment. La 24 de ore se constată numeroase celule necrozate şi o apreciabilă infiltraţie a ţesutului tumoral cu macrofage. După 2—3 săptămîni, ţesutul tumoral este înlocuit de un ţesut de granulaţie format din macrofage, limfocite, celule gigante, fibroblaste şi capilare; macrofagele au fagocitat cantităţi mari de pigment. În nodulii neinjectaţi, leziunile celulelor tumorale, ca şi infiltraţia inflamatorie sînt mai puţin exprimate, ca şi cum reacţia imună nu este

capabilă să distrugă țesutul tumoral. Concluziile acestor observații sînt că BCG stimulează reacția imună a organismului atît nespecific (creșterea capacității de transformare blastică a limfocitelor sub acțiunea PHA), cît și specific (transformarea blastică crescută în contact cu antigenul tumoral).

Față de această imunoterapie aparent nespecifică, Lewis (1970) propune o imunoterapie specifică cu celule tumorale autoloage, iradiate cu 12 000 razi și injectate în 6 puncte diferite ale corpului, cu ajutorul căreia obține o importantă creștere a titrului de anticorpi, fără rezultate clinice concludente (pacienții se găseau în stadiul III).

Toate aceste rezultate tind să se cristalizeze în concluzia posibilității obținerii unor reale succese terapeutice în clinica melanomului malign, prin metode de imunoterapie.

Scanned with OKEN Scanner

VII

IMUNITATEA ÎN LIMFOAME MALIGNE

A. ASPECTE GENERALE ALE IMUNITĂŢII ÎN LIMFOAME MALIGNE

Limfoamele maligne sînt tumori rezultate din proliferarea neoplazică a celulelor participante la desfăşurarea reacţiei imune, limfocite şi histiocite, ca şi a precursorilor sau succesorilor lor. Întrucît aceste celule sînt elementele caracteristice ale ţesutului limfoid, tumorile menţionate se întîlnesc în special la nivelul organelor limfoide (ganglioni, splină, structuri limfatice digestive, timus, măduvă hematogenă), dar pot pleca din orice organ sau ţesut, inclusiv din sistemul nervos central. Se deosebesc de restul tumorilor maligne, de aşa-numitele cancere nelimfomatoase, printr-o serie de particularităţi de geneză şi evoluţie, în determinarea cărora factorii imunologici joacă un rol deosebit.

Importanţa actuală a limfoamelor maligne constă în incontestabila creştere a incidenţei lor în ultimii ani, în predispoziţia lor de a afecta şi copiii sau persoanele tinere şi în progresele recente făcute în înţelegerea patogenezei lor, care generează perspective optimiste în ceea ce priveşte posibilitatea unui control terapeutic sau chiar profilactic. Numeroase observaţii clinice şi experimentale sugerează că limfoamele n-ar fi adevărate tumori maligne, ci mai degrabă boli limfoproliferative sau imunoproliferative (Lukes şi Parker, 1971). Pentru moment însă, caracterul lor malign este subliniat de faptul că în lipsa unui tratament corespun-

Scanned with OKEN Scanner

zător și, de multe ori, în ciuda acestui tratament, ele provoacă moartea organismului care le-a generat.

Creșterea incidenței acestor boli pare legată de unele particularități ale modului de viață actual cum ar fi frecvența mai mare a infecțiilor virale sau a altor factori cu posibilă acțiune alergizantă sau oncogenă: radiații, substanțe chimice industriale, medicamente, vaccinări. Rolul infecțiilor și infestațiilor caracteristice societăților subdezvoltate este subliniat de patogeneza limfomului Burkitt.

Limfoamele maligne fac pare dintre neoplaziile care apar la orice vîrstă, fiind foarte frecvente în prima copilărie. În sfîrșit, importanța lor a crescut și din cauza unei trăsături favorabile: în ultimii ani s-au obținut succese remarcabile în tratarea și chiar vindecarea unor astfel de boli, considerate pînă acum ca iremediabil maligne. O expresie a acestor succese este renunțarea la atributul de malign, care desemna pînă acum cîțiva ani boala Hodgkin. Succesele terapeutice obținute în domeniul limfoamelor maligne dau orientări și deschid perspective pentru terapia celorlalte tumori maligne.

Din punct de vedere teoretic, aceste boli reprezintă un prețios material pentru studiul unor aspecte ale reacției imune. S-a menționat că lucrări executate pe globulinele furnizate în cantități mari și uniforme de către bolnavii cu mielom au adus contribuții hotărîtoare la clarificarea structurii imunoglobulinelor și a sistematizării claselor și subclaselor acestor principii cu rol esențial în imunitate.

Referitor la problema imunității acestor bolnavi, ei prezintă o comportare diferită față de restul tumorilor maligne, numite, tocmai din această cauză de către Southam (1968), tumori nelimfomatoase. Această comportare se datorește interesării de către proliferarea tumorală, încă de la începutul bolii, a țesuturilor limfoide și a altor țesuturi importante în producerea reacției imune. În urma acestui fapt, depresiunea imunologică, care în tumorile obișnuite apare într-un stadiu mai avansat, se întîlnește în limfoamele maligne încă din faza incipientă.

În considerarea raporturilor dintre imunitate și neoplazie, cel mai interesant aspect al limfoamelor maligne, îl constituie faptul că factorii imuni par să joace, așa cum s-a menționat în primul capitol, un rol direct în producerea bolii. Se acumulează din ce în ce mai multe observații clinice și experimentale după care limfoamele maligne ar fi de multe ori, dacă nu totdeauna, expresia unor reacții imune patologice. Desigur, limfoamele maligne nu constituie singurul exemplu în care boala este produsă de reacția imună patologică. Acest lucru se întîmplă și în cazul bolilor alergice sau autoimune. Limfoamele maligne reprezintă însă cea mai gravă formă de reacție imună, patologică.

În funcție de caracterele lor anatomo-clinice, limfoamele maligne se clasifică în limfomul Hodgkin și limfoamele nehodgkiniene limfocitare

Scanned with OKEN Scanner

și histiocitare (limfo- și reticulosarcoame). Evoluția mai lentă, caracterul histologic de cele mai multe ori granulomatos al leziunii și o evidentă susceptibilitate la terapia actuală conferă bolii Hodgkin o individualitate, sugerînd o patogeneză diferită.

Deficiența imunologică a pacienților cu limfoame maligne este exprimată în special de incidența mare a complicațiilor infecțioase, a bolilor autoimune și a unui al doilea neoplasm primitiv la acești pacienți (D. G. Miller, 1968).

1. INFECȚIILE

Susceptibilitatea pacienților cu limfoame, în special cu leucemii acute, la infecție este binecunoscută. Ea este mai puțin evidentă în formele cronice sau în perioada de remisiune a leucemiilor acute. Fenomenul este ușor explicat cînd se are în vedere scăderea apreciabilă a imunocitelor în organismul acestor pacienți cu sistemul limfoid lezat. Mai interesant este însă faptul că pacienții cu limfoame maligne prezintă, înainte de apariția bolii, o incidență de două ori mai mare de infecții cronice sau recidivante, în comparație cu bolnavii cu tumori maligne obișnuite. Constatarea sugerează atît importanța unei imunități deficiente, cît și rolul infecțiilor repetate în producerea limfoamelor maligne.

2. BOLILE AUTOIMUNE

Incidența acestor boli este semnificativ mai mare printre pacienții cu limfoame maligne, decît printre cei cu tumori nelimfomatoase. Miller (1968) a găsit o incidență de 1,9% a reumatismului cronic și a altor boli de colagen și de 4,9% a anemiei hemolitice la pacienții cu limfoame, în raport cu, respectiv, 0,6% și 0,1% la pacienții cu tumori obișnuite. S-au mai constatat complicarea limfoamelor maligne cu anemie hemolitică, apariția de limfoame histiocitare la bolnavi cu sindrom Sjögren și apariția unui limfom malign pe tiroidite Hashimoto. Faptul că limfomul malign reprezintă complicația reacției imune patologice care a generat boala de autoagresiune trebuie avut în vedere.

3. APARIȚIA UNUI AL DOILEA NEOPLASM PRIMITIV

Față de cancerele obișnuite la care coincidența a două tumori primitive este o raritate, apariția unei a doua tumori primitive este mai puțin excepțională în cazul tumorilor limfomatoase, încît se obișnuiește în clinică să se atribuie unui astfel de fenomen înrăutățirea stării pacientului, în lipsa unor simptoame de evoluție a limfomului sau de infecție (Miller, 1968). Fenomenul ar apărea în special în cazul limfosarcoamelor și leu-

Scanned with OKEN Scanner

cemiilor și este rar în cazul bolii Hodgkin. Hyman și colab. (1963), pe 1780 de pacienți cu carcinom al colonului și 650 de pacienți cu leucemie sau limfom, au găsit coincidența celor două leziuni în 21 de cazuri. 13 din acești pacienți aparțineau izogrupei A. În acest sens, 10% din pacienții cu leucemie sau limfom, avînd grupa A sau AB, prezintă și un carcinom de colon. Alte studii arată că incidența unei a doua tumori la pacienți cu leucemie limfatică cronică, după cum arată necropsia, variază, în funcție de autor, între 4 și 20%. Incidența unei a doua tumori la acești pacienți este statistic semnificativ mai ridicată decît la pacienți de aceeași vîrstă, cu leucemie cronică granulocitară (Genz și Angus, 1965).

Importanța tulburărilor imunologice la pacienții cu limfoame maligne justifică ipotezele conform cărora aceste tulburări au o importanță primordială în producerea acestor boli, după cum se va arăta în continuare.

B. ASPECTE PARTICULARE ALE IMUNITĂȚII ÎN PRINCIPALELE LIMFOAME MALIGNE

1. LIMFOMUL HODGKIN

Limfonul Hodgking a produs de mult timp tot felul de dificultăți specialiștilor, mai ales prin contrastul dintre caracterul reactiv, inflamator, pe care îl îmbracă de cele mai multe ori leziunea microscopică și evoluția malignă, însă mai prelungită, a bolii. De aici au rezultat multiplele ipoteze care încercau să explice producerea bolii.

Investigațiile recente au arătat că prin importanța dereglărilor imunologice pe care le prezintă acești pacienți, boala Hodgking este un exemplu tipic de discrazie imunologică și că foarte probabil esența bolii constă în fenomene imune patologice. Succesele terapeutice obținute mai ales în fazele incipiente localizate, ale bolii, care justifică îndepărtarea atributului de malign din denumirea bolii, întăresc aceste presupuneri: intervenția terapeutică precoce poate opri reacția imună patologică.

Dintre numeroasele explicații care caută să precizeze natura acestei reacții imune patologice, două s-au impus atenției specialiștilor: cea care consideră boala expresia unei reacții grefă-contra-receptor și cea mai apropiată de alte situații întîlnite în patologia umană, care o consideră o reacție de hipersensibilitate întîrziată exagerată. Ambele ipoteze explică însă satisfăcător depresia imunologică progresivă întîlnită în această boală, care coincide cu evoluția leziunilor microscopice, care merg de la o hiperplazie limfocitară și histiocitară spre dispariția limfocitelor și fibroza organelor limfatice, fibroza sugerînd „cicatricea unei bătălii imunologice" (Smithers, 1967).

Scanned with OKEN Scanner

Reacţia greﬁă-contra-receptor este sugerată tocmai de această fibroză a organelor limfoide, cu dispariţia limfocitelor, ca şi de anemia consecutivă leziunilor medulare, care amintesc leziunile produse la animale lipsite de competenţă imunologică prin inocularea de limfocite. Experimental, s-a constatat că animalele care supravieţuiesc unei astfel de agresiuni prezintă ulterior o incidenţă semnificativă de limfoame maligne. În privinţa originii limfocitelor care produc agresiunea, s-a sugerat că ele ar avea o origine maternă. În cursul vieţii intrauterine, limfocitele materne ar pătrunde, datorită unor leziuni placentare, în circulaţia fetală. Toleranţa reciprocă a celor două populaţii limfocitare duce la constituirea unei himere, care, uneori, persistă toată viaţa. Alteori însă, intervenţia unor factori ar rupe această toleranţă şi limfocitele materne atacă ţesutul limfoid al receptorului, producînd simptomatologia bolii (Green şi colab., 1960). Este dificil de explicat însă prezenţa celulelor Reed-Sternberg, ca şi depresia preferenţială a imunităţii celulare într-un astfel de proces.

O *reacţie de hipersensibilitate întîrziată* exagerată a fost sugerată de infiltratele limfocitare şi histiocitare şi necroza ce caracterizează leziunile incipiente de limfom Hodgkin.

Celulele gigante Reed-Sternberg, caracteristice bolii, ar fi corespondentele patologice ale celulelor gigante similare întîlnite uneori la nivelul unor astfel de reacţii. O origine timică a limfocitelor care proliferează în fazele incipiente ale bolii coincide, de asemenea cu această ipoteză. Febra caracteristică bolii completează tabloul anatomo-clinic al unei reacţii de hipersensibilitate întîrziată.

Interesarea progresivă a diverselor grupe ganglionare, similară diseminării metastatice, s-ar datora pătrunderii progresive a antigenului în ganglionii respectivi, unde determină aceeaşi reacţie. Efectul favorabil al radioterapiei s-ar datora tocmai blocării acestei diseminări, prin fibroza pe care o produce. În sfîrşit, angajarea întregului sistem limfoid împotriva unui anumit antigen face să scadă substanţial posibilitatea de reacţie faţă de alte antigene şi explică, pe lîngă depleţia limfoidă şi fibroza ganglionară, depresia imunologică.

Nu se cunoaşte natura presupusului agent sensibilizant. Natura sa virală este sugerată de o serie de observaţii. Unele infecţii virale cum sînt gripa, mononucleoza infecţioasă, rujeola, parotidita epidemică, poliomielita, varicela, ca şi aplicarea de vaccinuri virale vii induc stări de anergie cu dispariţia reacţiilor cutanate de hipersensibilitate (tuberculină), ca în boala Hodgkin. Această anergie ar fi datorită pătrunderii virusului în organele limfoide şi alterării capacităţii funcţionale a limfocitelor, în special a celor timus-dependente (o astfel de acţiune a putut fi demonstrată pentru virusul rujeolei). Anergia ar putea fi analoagă celei obţinute prin desensibilizarea unor organisme sensibilizate, prin administrarea unor mici doze de antigen. Sporadic, din ganglionii pacienţilor cu

Scanned with OKEN Scanner

Hodgkin s-au cultivat virusuri herpetiforme sau un virus asemănător virusului simian SV5; s-a menţionat prezenţa de anticorpi faţă de virusul Epstein-Barr la un anumit număr de pacienţi.

Apariţia de celule Reed-Sternberg în ganglionii pacienţilor cu mononucleoză infecţioasă, herpes zoster sau cu reacţii postvaccinale, ca şi legătura incontestabilă dintre tuberculoză şi boala Hodgkin, fac verosimilă ipoteza că această boală este de fapt reacţia anormală a organismului faţă de diferiţi agenţi infecţioşi, desigur în primul rînd de natură virală. De fapt, încă din 1936, Titu Vasiliu şi Goia au considerat boala ca urmarea infecţiei cu o formă specială, filtrabilă, de bacil tuberculos.

Limfocitopenia, dispariţia limfocitelor din ganglioni, cu persistenţa plasmocitelor, diareea, caşexia şi sfîrşitul letal amintesc şi simptomatologia apărută la animalele *timectomizate neonatal* (*runt disease*). Întrucît aceasta pare să fie urmarea infecţiei microbiene pe un organism imunodeficient (ea nu apare la animale crescute în condiţii de sterilitate), s-a considerat boala Hodgkin şi urmarea unei astfel de imunodeficienţe dobîndite (Thomson, 1955).

Alterarea reacţiilor de hipersensibilitate întîrziată este principalul aspect imunologic al bolii Hodgkin. Dorothy Reed a observat încă din 1902 negativizarea reacţiei la tuberculină la aceşti bolnavi şi observaţia ei a fost cu regularitate confirmată ulterior. Anergia tuberculoasă apare în general cam la două luni după debutul clinic al bolii şi este de obicei precedată de o diminuare a reactivităţii. Remisiunea bolii duce uneori la pozitivizarea reacţiei. Concomitent, dispare reactivitatea şi la alte antigene (toxid difteric, streptokinază-streptodornază, tricofitină, candidină) sau la substanţe alergizante (DNCB). Nici unul din 25 de pacienţi cu limfom Hodgkin în plină evoluţie n-au prezentat reacţia pozitivă, spre deosebire de bolnavii în perioadă de remisiune, la care 11 din 12 au reacţionat pozitiv. Studii corelate stadiului clinic al bolii, executate de Brown şi colab., (1967) prin explorarea intradermoreacţiei, în special la DNCB, au arătat că pacienţii în stadiul I (localizat) prezintă în general reacţii normale de hipersensibilitate, spre deosebire de pacienţii în stadiile II—IV, la care aceste reacţii sînt progresiv alterate. Ultimul aspect coincidea de cele mai multe ori cu limfopenie periferică şi depleţie limfocitară a ganglionilor. 80% din pacienţii cu probe pozitive la DNCB prezentau peste 1 500 limfocite/mmc, spre deosebire de pacienţii cu probe negative, dintre care 80% prezentau valori inferioare. Anergia cutanată coexista şi cu o scădere a piridoxil-fosfatului plasmatic.

Eliminarea homografelor cutanate apare şi ea prelungită la pacienţii cu limfom Hodgkin. La 2 din 13 pacienţi, grefele s-au prins ca nişte autografe, la 8 eliminarea a fost mult prelungită, pînă la 1—3 luni (Kelly şi colab. 1960). De asemenea, s-a constatat prelungirea supravieţuirii transplantelor de măduvă hematogenă.

Scanned with OKEN Scanner

Transformarea blastică a limfocitelor în culturi sub acțiunea PHA apare diminuată la 87% din bolnavi. Diminuarea reactivității este în general proporțională cu extensia procesului patologic și cu negativarea testelor cutanate (Hersh și Oppenheim, 1965). Concomitent este scăzută reactivitatea la aceste antigene (PPD, virus vaccinal) sau limfocite histoincompatibile, ca și capacitatea citotoxică a acestor celule. Faptul că în unele experiențe s-a reușit restaurarea capacității blastogene prin adăugarea de ARN extras din limfocite normale a permis sugestia că ar exista un defect intrinsec al limfocitelor acestor pacienți. Toate acestea coincid cu scăderea capacității limfocitelor de a produce reacție, cînd sînt inoculate în pielea altui organism (*reacția de transfer limfocitar Brent-Medawar*) (Aisenberg, 1965). Interesante sînt și insuccesele tentativelor de a se restabili aceste reacții, în special sensibilitatea la tubeculină prin transfuzii de limfocite normale (Kelly și colab., 1960).

În ciuda unor rezultate indicînd și o scădere a capacității de formare a anticorpilor, majoritatea cercetărilor arată că această capacitate, ca și titrul complementului seric, nu sînt semnificativ modificate la bolnavii în cauză. În acest sens este sugestiv rezultatul după care 80% din pacienții cu boală Hodgkin își pierd reactivitatea cutanată la antigen de parotidită epidemică, dar își păstrează capacitatea normală de a produce anticorpi fixatori de complement (Hoffman și Tottini, 1950), ceea ce indică disociația dintre reactivitatea celulară și umorală.

Toate aceste modificări corespund cu o importantă scădere a numărului limfocitelor periferice, la mai puțin de 500/mmc. Asocierea bolilor autoimune este mult mai redusă la acești pacienți decît la cei cu limfosarcom sau leucemie.

În schimb, este semnificativă frecvența *complicațiilor infecțioase* la acești bolnavi. Încă din 1940, Ewing afirmase că „tuberculoza însoțește boala Hodgkin ca o umbră". Astăzi, scăderea incidenței bolii în general, a dus și la scăderea complicației tuberculoase în limfomul Hodgkin. Alte complicații citate sînt criptococoza, toxoplasmoza, bruceloza, herpesul zoster, listereloza.

Din punct de vedere teoretic, este foarte interesantă apariția, în special la pacienți cu limfom Hodgkin și mai puțin în alte limfoame, a *leucoencefalopatiei multifocale progresive*. Aceasta este o boală demielinizantă, caracterizată prin tulburări de caracter, afazie, hemipareză, tulburări vizuale și, în final, degradare intelectuală. Gabriele Zu Rhein a pus în evidență în nucleii unor celule din creier prezența de particule virale asemănătoare celor din grupul papova (virusuri ADN mici), care cuprinde virusul papilomului uman și virusul SV40. Demielinizarea ar fi rezultatul distrugerii de către virus a celulelor generatoare a tecilor de

mielină. Ulterior, aceste particule virale au putut fi cultivate pe celule gliale fetale. Toate circumstanţele arată că virusul este capabil să producă leziuni numai în condiţii de deprimare a imunităţii, cum este boala Hodgkin sau unele imunodepresii terapeutice. În acest sens, el face parte din aşa-numitele virusuri lente, care produc boli cronice ce evoluează lent spre sfîrşit fatal în organisme cu imunitate deficientă. În aceeaşi categorie sînt incluse şi alte boli, ca panencefalita sclerozantă subacută sau bolile produse de aşa-numite virusuri neconvenţionale, care ar fi responsabile de boala kuru sau de boala Kreuzfeld-Jacob (demenţă presenilă).

Ultimul aspect imunologic, dar nu cel mai puţin important, în legătură cu limfomul Hodgkin, este constituit de observaţiile care arată posibilitatea de transformare a unor forme granulomatoase în forme sarcomatoase; aceasta constituie încă o dovadă că reacţiile imune patologice, prelungite, se pot transforma în limfoame maligne.

Recunoaşterea rolului esenţial al factorilor imuni în patogeneza bolii a dus la înlocuirea clasificării histologice clasice întocmite de Jackson şi Parker (paragranulom, granulom şi sarcom) cu o clasificare care se bazează în primul rînd pe depleţia progresivă de limfocite a ganglionilor, semnalată de fapt încă din 1936 de către Rosenthal ca fiind principalul element de prognostic. În conformitate cu această concepţie, Lukes, Butler şi Ethel Hicks (1966) au formulat o clasificare cu incontestabilă valoare prognostică şi terapeutică, exprimînd această dispariţie a limfocitelor şi înlocuirea lor cu ţesut fibros sau tumoral. Procesul patologic începe printr-o *hiperplazie limfocitară şi/sau histiocitară, nodulară sau difuză,* cu rare celule Sternberg, care desigur are cel mai favorabil prognostic în cadrul bolii, aceste forme corespunzînd în general vechiului paragranulom (fig. 104). În continuare, tabloul histologic este modificat de apariţia unor zone de fibroză, care, menţinîndu-se în anumite porţiuni (fibroză nodulară), nu produc încă o diminuare prea accentuată a numărului limfocitelor (fig. 105). Ulterior, infiltraţia granulocitară (metaplazia mieloidă) reduce, pe lîngă fibroză, proporţia de limfocite din ganglion; este stadiul de *celularitate mixtă* (fig. 106). În fazele avansate ale bolii sau în formele cu evoluţie gravă, limfocitele dispar aproape complet, pe seama procesului de fibroză, care de data aceasta are caracterul de fibroză difuză (fig. 107) sau de proliferare sarcomatoasă, *reticulară* (fig. 108). Ulterior, o comisie de experţi întrunită la Rve (S.U.A.) a redus aceste forme la următoarele patru: predominanţă limfocitară, fibroză nodulară, celularitate mixtă, depleţie limfocitară. Ultima formă include, însă, atît fibroza difuză, cît şi forma reticulară.

Reflectînd patogeneza imună a bolii şi avînd o incontestabilă valoare practică, această clasificare histologică prezintă uneori deosebite dificultăţi, din cauza variaţiei leziunii de la un ganglion la altul sau chiar în

Scanned with OKEN Scanner

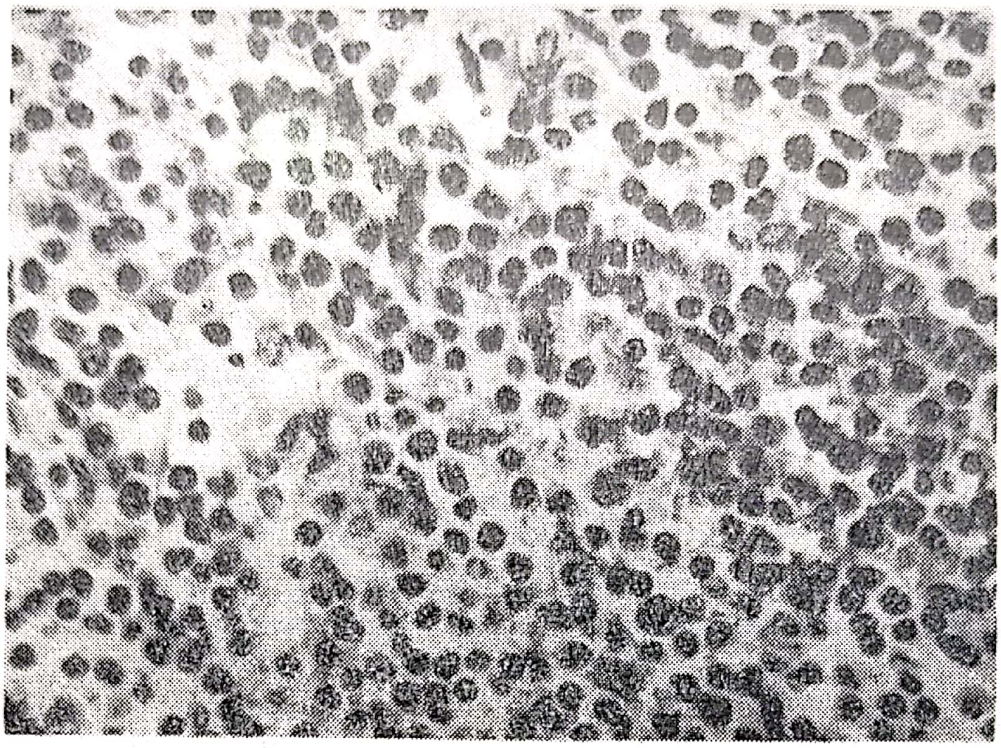


Fig. 104. — Limfom Hodgkin. Hiperplazie limfocitară și histiocitară. Col. H-E.

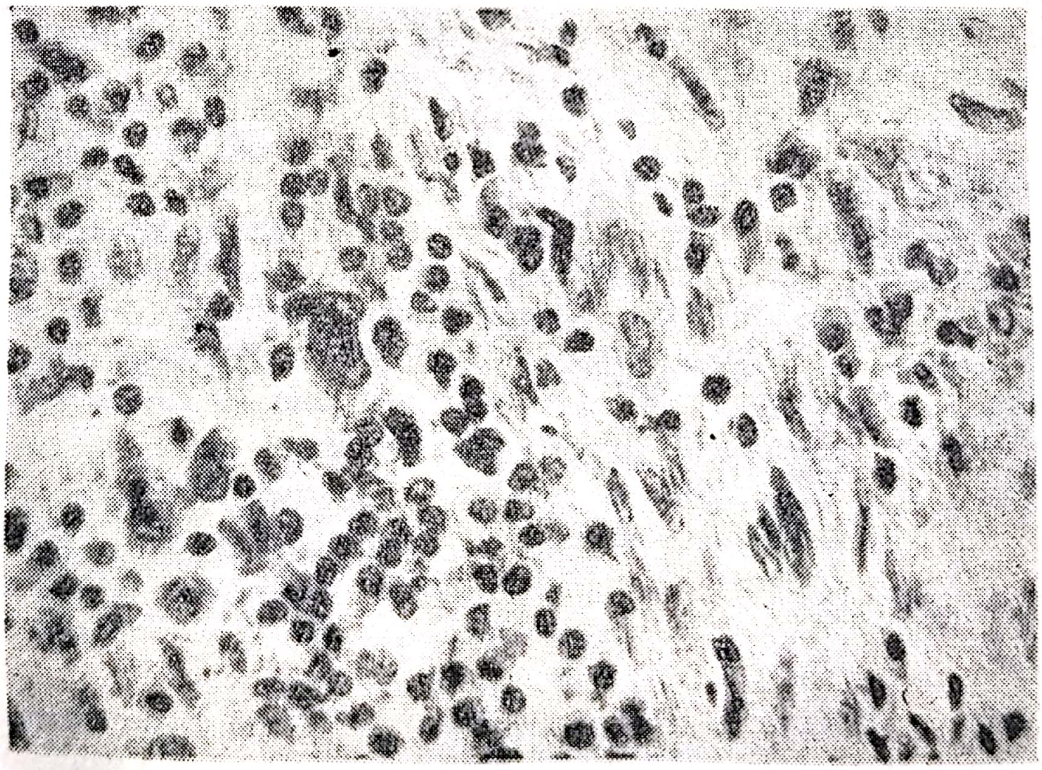


Fig. 105. — Limfom Hodgkin. Fibroză nodulară. Col. H-E.

Scanned with OKEN Scanner

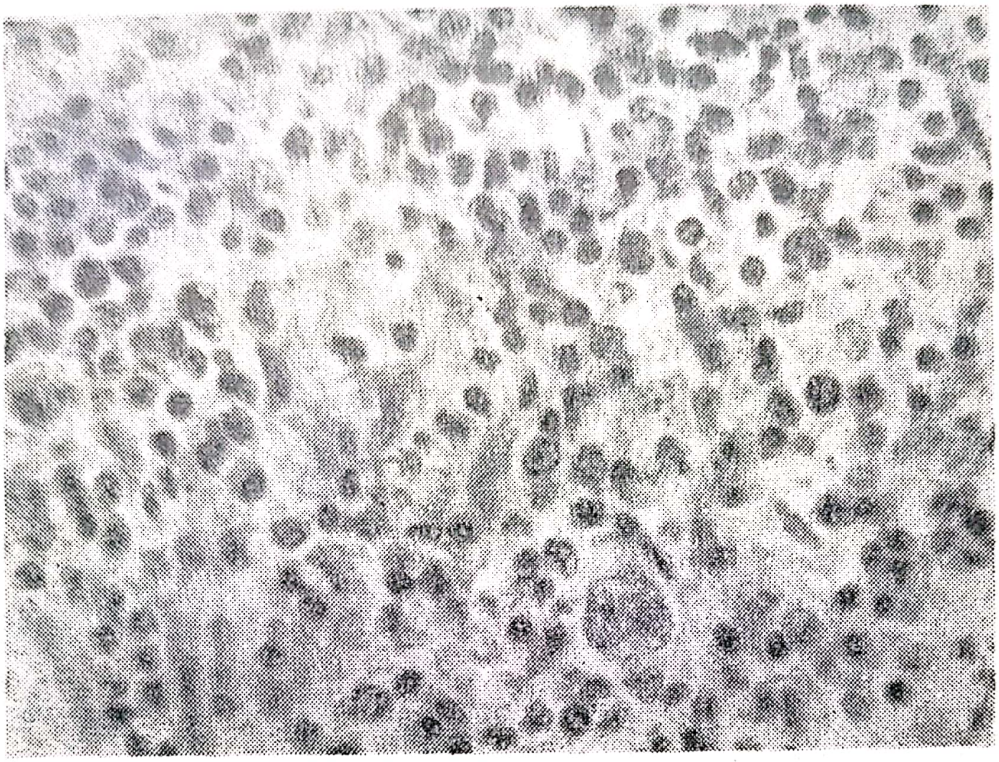


Fig. 106. — Limfom Hodgkin. Celularitate mixtă. Col. H-E.

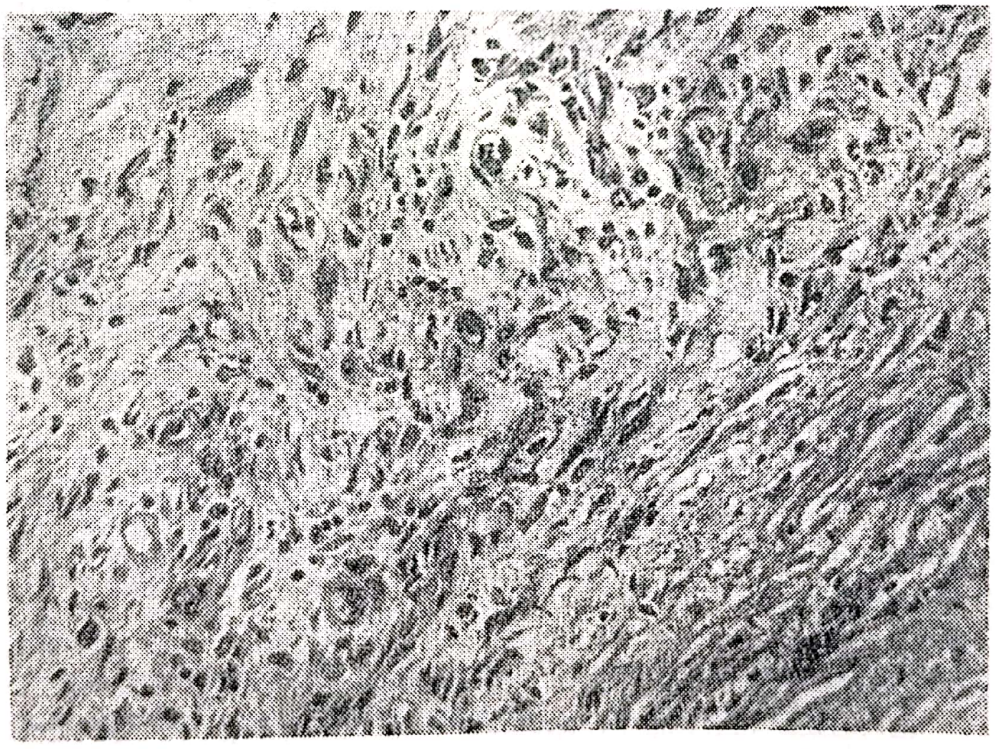


Fig. 107. — Limfom Hodgkin. Depleție limfocitară prin fibroză difuză. Col. H-E.

Scanned with OKEN Scanner

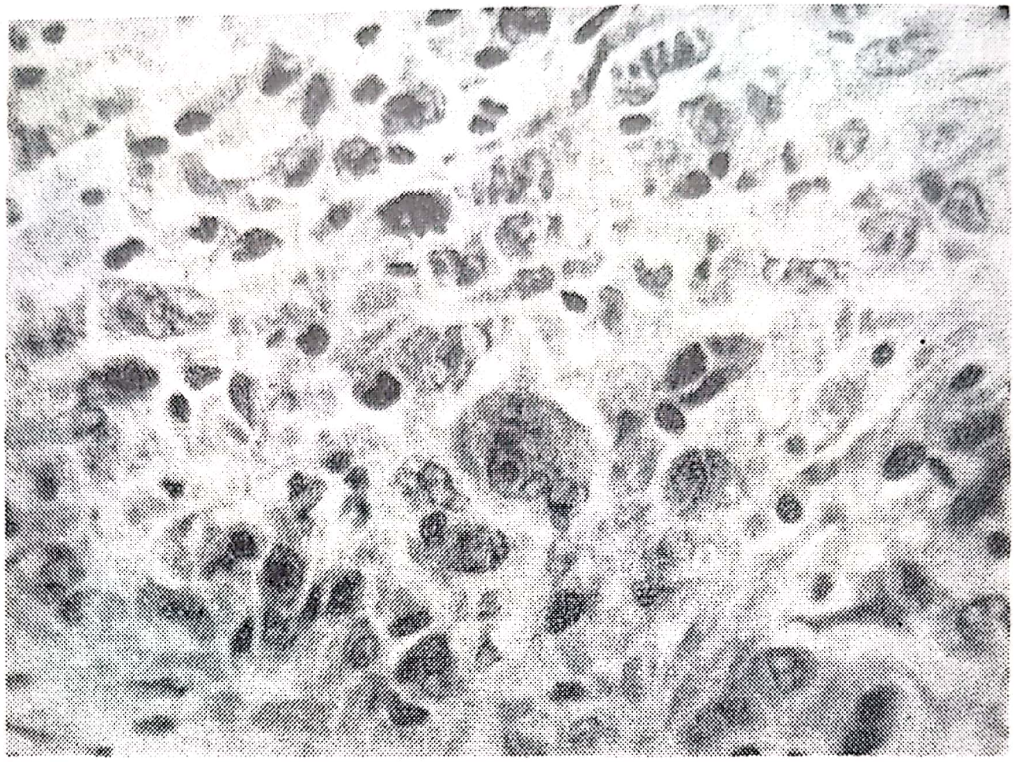


Fig. 108. — Limfom Hodgkin. Formă reticulară a depleției limfocitare (sarcom Hodgkin). Col. H-E.

același ganglion, ceea ce face imposibilă integrarea cazului în unul din tipurile clasificării. Concordanța de diagnostic dintre trei practicieni cu experiență în patologia limfoamelor poate să fie de numai 66%.

2. LIMFOAMELE NEHODGKINIENE

O alterare a reacțiilor de imunitate celulară care se accentuează pe măsura progresului bolii se constată și în limfoamele nehodgkiniene (limfosarcoame, reticulosarcoame). În același timp se notează și o scădere a capacității de a reacționa prin anticorpi la solicitări antigenice primare sau secundare. Aceasta coincide însă cu variații ale gamma-globulinelor mergînd de la hipergamma-globulinemie pînă la agamma-globulinemie. În limfosarcoame, 60% din pacienți prezintă valori normale, 15% valori scăzute, 25% valori crescute; aceasta față de respectiv, 11%, 65% și 24%, în reticulosarcoame.

Capacitatea de transformare blastică a limfocitelor este scăzută, cu excepția unor limfosarcoame limfocitare, unde ea poate fi conservată în limite normale. Limfocitele, în special cele provenite de la pacienții cu reticulosarcom, cresc cu greu în culturi. De multe ori reacțiile cutanate de hipersensibilitate întîrziată dispar, iar timpul de eliminare a homografelor

Scanned with OKEN Scanner

este prelungit. Capacitatea fagocitară se poate menține de multe ori în limite normale.

Expresia clinică a acestei depresii imunologice constă în frecvența complicațiilor infecțioase la acești bolnavi, mai ales a pneumoniilor bacteriene. Se întîlnesc și complicații micotice, în special criptococoză. S-au descris și complicații autoimune, în special reumatism cronic, lupus, dermatomiozită, sindrom Sjögren. Doi din 10 pacienți cu limfosarcom sau leucemie limfatică cronică prezintă fenomene autoimune. Apariția fenomenelor autoimune, cu precădere a anemiei hemolitice, purpurei trombocitopenice sau a unor vasculite, pare favorizată de radioterapie.

Analogia modificărilor histologice i-a făcut pe unii specialiști (Lukes și Butler, 1974) să încadreze *leucemia limfocitară cronică* în grupul limfoamelor maligne. Caracteristicile imunologice ale bolii sînt exprimate de faptul că pacientul posedă două populații de celule limfoide, una cu funcție normală, cealaltă, deși morfologic asemănătoare primei, incapabilă de reacții imune normale. Cînd aceasta devine predominantă, apar exprimate alterări ale imunității, asemănătoare celor întîlnite în limfosarcoame. Existența concomitentă a celor două populații a putut fi demonstrată cu ajutorul coloanei de polistiren, de pe care limfocitele normale pot fi eluate, în timp ce limfocitele patologice aderă în continuare. Limfocitele patologice, prezentînd alterarea capacității de transformare blastică, se găsesc în special în sînge, fiind incapabile să părăsească circulația sanguină. Ele pot fi recunoscute prin sensibilitatea lor crescută la colchicină și l-asparaginază și prin radiorezistența lor.

Capacitatea redusă de transformare blastică a limfocitelor patologice, sub acțiunea PHA sau PPD apare urmarea unui defect intrinsec (plasma leucemicilor nu inhibă transformarea). Defectul se accentuează în perioadele de exacerbare și se estompează în cursul remisiunilor. Capacitatea de transformare blastică apare ctîeodată mai degrabă întîrziată, decît propriu-zis suprimată, uneori crescînd, după 5—7 zile de cultură, fără a atinge valori normale. Electronooptic, celulele leucemice apar mai mici, cu nucleu mai mare și corpusculi nucleari mai numeroși. Sînt mai aderente între ele și sub acțiunea PHA prezintă forme blastice intermediare, cu nucleoli dubli și corpusculi nucleari lamelari. Spre deosebire de limfocitele normale, capabile să adere prin membrana lor de microbi față de care au fost sensibilizate, limfocitele patologice sînt lipsite de această proprietate.

În ceea ce privește anticorpii, de cele mai multe ori se întîlnește hipo- sau agamma-globulinemie, mai ales în formele cu evoluție îndelungată, fenomen paralel cu frecvența crescută a infecțiilor microbiene. Nu există însă o corelație strictă între intensitatea scăderii gamma-globulinelor

Scanned with OKEN Scanner

și malignitatea evoluției. Vaccinarea produce reacții primare și secundare mult diminuate.

În contrast, reacțiile cutanate de hipersensibilitate întîrziată sînt mai puțin alterate, ele fiind produse de populația celulară normală. Eliminarea transplantelor decurge uneori normal, alteori este întîrziată. După unii cercetători (Moertel și Hagedorn, 1957), alte tumori maligne pot surveni pînă la 20% din pacienții cu leucemie limfatică cronică. Se întîlnesc de asemenea boli autoimune, în special anemie hemolitică, purpură trombocitopenică, lupus.

Herpes zoster este o complicație frecventă la acești pacienți, iar vaccinarea antivariolică poate produce vaccină generalizată. Complicațiile septice bacteriene sînt și mai frecvente (în special cu stafilococi, streptococi, pneumococi, bacili coli, bacili protei), ele apărînd de cele mai multe ori sub formă de pneumonii, dar și piodermii, pielonefrite, faringite, de multe ori cu o evoluție fatală.

Plasmocitomul sau *mielomul multiplu* este de asemenea legat de limfoamele maligne, în special de limfomul limfocitar plasmocitoid. Este individualizat însă de faptul că este prin excelență o tumoare malignă care produce mari cantități de anticorpi. Boala se caracterizează prin frecvența complicațiilor infecțioase și alterarea capacității de a forma anticorpi normali. În schimb, imunitatea celulară apare relativ intactă. Prin acest caracter se deosebește de restul tumorilor organelor responsabile de imunitate.

Profunda dereglare a capacității de producere a anticorpilor reiese din cantitatea scăzută de anticorpi obținută la pacienți cu mielom, după stimulări repetate cu diferite antigene (bacterii, virusuri, bacteriofagi, proteine). Se obțin însă intradermoreacții pozitive la diferite antigene microbiene și la DNFB. Eliminarea homografelor este însă uneori prelungită. Transformarea blastică a limfocitelor sub acțiunea PHA apare normală sau ușor diminuată; la antigene microbiene, transformarea blastică este mai redusă. În unele statistici, 20% din pacienții cu mielom au prezentat o a doua tumoare (Weitzel, 1958).

Mai bine de jumătate din pacienți mor în urma complicațiilor infecțioase (pneumonii, pielonefrite cu pneumococi, stafilococi, bacili coli sau bacili piocianici). Nu există corelații între frecvența complicațiilor infecțioase și cantitatea de globulină mielomatoasă, tipul aceste globuline și nivelul Ig normale.

Complicațiile infecțioase apar cam în proporția unei treimi a celor din mielom și la pacienții cu *macroglobulinemie Waldenström*. Concomitent, capacitatea de transformare blastică a limfocitelor este scăzută și este în special redusă producția de IgM, pe lîngă reacția scăzută după vaccinare antitifică, antidifterică sau antiparotidită epidemică.

Scanned with OKEN Scanner

Leucemia acută provoacă, prin interesarea ţesuturilor limfoide, apreciabile alterări ale producţiei de anticorpi şi ale reacţiilor de imunitate celulară, cu apariţia de complicaţii infecţioase care sînt în majoritatea cazurilor responsabile de decesul acestor pacienţi. Totuşi, capacitatea de reacţie umorală şi celulară este de multe ori neaşteptat de puţin modificată, indicînd granulocitopenia drept cauză principală a susceptibilităţii la infecţii (Harris şi Sinkovits, 1970).

Astfel, într-o serie de cercetări, s-au obţinut concentraţii normale de anticorpi după vaccinare antipneumococică, antitifo-paratifică, antigripală, antitetanică. Aceasta coincide, mai ales la începutul bolii şi înainte de instituirea chimioterapiei, cu valori normale ale Ig şi cu o capacitate de transformare blastică a limfocitelor avînd aceaşi comportare.

Funcţia fagocitară apare însă alterată, ca şi activitatea bactericidă a fagocitelor. Este întîrziată capacitatea de mobilizare atît a granulocitelor, cît şi a macrofagelor. Ca urmare, se produc infecţii microbiene cu microbi de multe ori saprofiţi în condiţii obişnuite (bacili piocianici, bacili coli, stafilococi, bacili Friedländer, listerii), ciuperci (Candida, Aspergillus, Mucor, Histoplasma, Criptococcus), protozoare (*Pneumocystis carinii*). Se întîlnesc şi boli virale (boala incluziilor citomegalice); vaccinarea antivariolică poate produce vaccină generalizată.

În *leucemia granulocitară cronică,* alterarea imunităţii este un anumit timp puţin exprimată, fiind conservate reacţii umorale şi celulare normale, inclusiv o funcţie fagocitară apropiată de cea normală. Această situaţie poate fi modificată de apariţia unor episoade acute sau de transformarea blastică a seriei granulocitare.

C. POSIBILITATEA TRANSFORMĂRII REACŢIEI IMUNE ÎN LIMFOM MALIGN

De la introducerea diagnosticului histopatologic în practică, una din cele mai dificile situaţii impuse anatomo-patologului este aceea de a decide dacă modificările microscopice dintr-un organ limfoid, în special dintr-un ganglion, sînt expresia unei simple reacţii inflamatorii sau reprezintă faza timpurie a unui limfom malign. Această situaţie a devenit mult mai frecventă în ultimii ani, cînd biopsiile ganglionare se execută mult mai des şi într-un stadiu mai timpuriu al adenopatiei şi mai ales cînd numeroase observaţii clinice sau experimentale sugerează că în anumite condiţii imune prelungite, patologice, se pot transforma în limfoame maligne.

Acest ultim punct de vedere nu este cu totul nou, întrucît discuţii asupra unei astfel de eventualităţi s-au purtat încă de acum 20 de ani. Astfel,

Scanned with OKEN Scanner

între 1955—1958, Rubin Popa şi-a exprimat în repetate rînduri convingerea fermă, bazată în special pe observaţii microscopice, că, în anumite condiţii, procesele inflamatorii cronice se pot transforma în leucemii sau limfosarcoame. Această opinie a fost clar expusă în şedinţele cercului de hematologie anatomo-clinică care a funcţionat în acel timp la Cluj, referindu-se în special la evidentele raporturi citologice şi biochimice, care sugerau filiaţia dintre boala Waldenström, leucemia plasmocitară şi mielomul multiplu, ca şi dintre anumite procese inflamatorii cronice, leucemii şi limfosarcoame. Opinia menţionată constituia concluzia unui studiu asupra unor cazuri de septicemie stafilococică cu evoluţie lentă în care hiperplazia limfohistiocitară generalizată, ducînd la ştergerea structurii foliculare a ganglionilor şi splinei, ca şi extensia infiltratelor din spaţiile porte hepatice, ridica problema de diagnostic diferenţial cu leucemia sau limfomul malign (R. Popa, Quai şi Simu, 1958). La sugestia sa, acest tablou patologic a fost reprodus experimental de Maria Bedivan (1960) la iepuri cu septicemie stafilococică tratată insuficient cu antibiotice.

Cam în acelaşi timp, Macavei, Hărăguş, Perian, Papilian şi Cofaru (1957) şi-au publicat observaţiile asupra unor pacienţi cu faringite, reumatism sau tuberculoză la care, în decurs de cîteva luni sau cîţiva ani, leziunea microscopică s-a transformat dintr-o limfadenită nespecifică sau specifică în leucemie sau limfom malign. Impresionaţi de dinamismul modificărilor histologice, autorii ajung chiar să afirme că nu orice indiciu de malignitate histologică echivalează cu o malignitate constituită, ireversibilă. De asemenea, Berceanu şi colab. (1967) şi-au publicat observaţiile asupra raporturilor incontestabile care există între stările limfoproliferative benigne sau reactive şi maligne, asociate de multe ori cu boli autoimune. În boli ca hepatita cronică, reumatismul cronic, sindromul Sjögren etc., hiperplazia limfoplasmocitară prelungită putea să se transforme în limfom malign cu sau fără expresie leucemică. Această eventualitate putea surveni şi în stări de imunodeficienţă, ca urmare a unor infecţii sau reacţii alergice repetate.

În anii care au urmat, s-au acumulat din ce în ce mai multe observaţii anatomoclinice asupra unor raporturi strînse între stări autoimune sau imunodeficiente şi limfoamele maligne, sugerate de coincidenţa dintre cele două categorii de boli. În acelaşi timp, odată cu progresul rapid al cunoştinţelor asupra modului de declanşare şi de desfăşurare a reacţiilor imune, ca şi prin punerea la punct a unor metode mai fine, dar în acelaşi timp mai reproductibile de imunologie, posibilitatea transformării unor reacţii imune prelungite, în limfoame maligne a fost demonstrată experimental. Astfel, peste 20% din şoarecii NZB, care supravieţuiesc unei anemii hemolitice autoimune condiţionate genetic, prezintă limfoame maligne transplantabile (East şi colab., 1965; Mellors, 1966). Similar, peste

30% din șoarecii hibrizi F_1, care supraviețuiesc unei reacții grefă-contra-receptor produsă de transplantarea limfocitelor parentale, prezintă neoplazii limfoide (Schwartz și Beldotti, 1965). În mod analog, o incidență de peste 50% a limfoamelor maligne se poate obține dacă se administrează limfocite puțin diferite din punct de vedere al histocompatibilității (deci generînd o reacție anti-receptor blîndă) imediat după naștere (Walford, 1964). Mai interesant este că simpla inoculare de limfocite singenice stimulate de infecția cu reovirus produce o agresiune imunologică (*runt disease*), urmată de apariția de limfoame maligne, asemănătoare limfomului Burkit (Stanley și Walters, 1966). Observațiile menționate coincid cu apariția de tumori asemănătoare mielomului multiplu la nurcile care au făcut boala aleutină.

Aceste date, ca și incidența limfoamelor maligne la pacienți cu boli autoimune, în special anemie hemolitică, purpură trombocitopenică, lupus eritematos, reumatism, dermatomiozită sau boala Sjören i-au determinat pe Miller și Osoba (1967) să afirme, în mod justificat, că există posibilitatea ca procesele autoimune prelungite să „escaladeze" în procese neoplazice.

În continuare, alte lucrări experimentale sau observații clinice s-au acumulat în sensul că reacțiile imune patologice, anormal prelungite sau decurgînd în organisme deficiente, pot să se transforme în procese leucemice și tumorale. De exemplu, s-au putut obține experimental limfoame maligne prin hiperimunizare față de diverse antigene. Metcalf (1961), prin injecții repetate de vaccin de *Salmonella adelaide* sau serum-albumină bovină la șoareci a obținut tumori limfoide sau plasmocitare. Moraru, Sulică și colab. (1975) au indus la șoareci AKR prin hiperimunizare cu antigenul polizaharidic, însoțit de injectarea repetată de Bayol F, un limfom malign care a putut fi menținut prin transplantări succesive. Transplantările intraperitoneale au dus la obținerea formei ascitice. Studiul imunologic al tumorii a arătat că în componența ei intră atît celulele B (15—25%), cît și celule T, care într-o linie formează pînă la 99% din celulele tumorale.

Un corespondent clinic al acestei situații pare să fie tumoarea individualizată sub numele de *sarcom imunoblastic*. Este vorba de un limfom malign care apare la indivizi suferind de mai mulți ani de boli autoimune (reumatism cronic, lupus eritematos, boala Sjögren), ca și la receptorii de transplante supuși unei terapii imunodepresive, la pacienții cu deficiențe imune congenitale și la persoane aparent sănătoase dar în vîrstă. Clinic, boala evoluează rapid și duce la deces în 2—3 luni, în ciuda intervenției terapeutice. După Lukes și Collins (1974), tumoarea reprezintă reacția unor organe limfoide cu competență funcțională redusă prin deficiențe congenitale, suprasolicitare sau îmbătrînire la o stimulare antigenică prelungită. Ea constă dintr-o proliferare destul de monomorfă

Scanned with OKEN Scanner

de celule mari pironinofile cu margini neregulate și nuclei mari ovali, nucleolați, uneori prezentînd tendință de diferențiere plasmocitoidă. Pînă acum s-au obținut numai sarcoame imunoblastice cu celule B, ceea ce nu exclude posibilitatea existenței unor astfel de tumori cu celule T.

S-a menționat anterior importanța factorilor imuni în patogeneza *bolii Hodgkin*, care este considerată de unii cercetători rezultatul unei agresiuni grefă-contra-organism, produsă de limfocitele materne pătrunse în circulația fetală sau expresia unei reacții de hipersensibilitate întîrziată exagerată, față de diverși antigeni, printre care cei virali sau microbieni par a avea o deosebită importanță. În acest sens este semnificativă prezența celulelor Reed-Sternberg în ganglionii unor persoane cu mononucleoză infecțioasă, (Lukes și colab., 1974), herpes zoster sau limfadenită postvaccinală (Hartrock, 1968). Observația, punînd în discuție valoarea diagnostică a acestor celule, sugerează însă rolul acestor virusuri sau a reacției împotriva lor în patogeneza bolii. Dacă tuberculoza apare de cele mai multe ori ca o complicație datorită depresiei imunologice ce caracterizează boala Hodgkin, cazurile în care leziunea limfogranulomatoasă survine pe fondul unor leziuni tuberculoase pune problema unei legături patogenice, așa cum au sugerat Titu Vasiliu și Goia (1931). De cîteva ori am putut observa, pe biopsii repetate la cîțiva ani, apariția granulomului Hodgkin la pacienți care prezentaseră anterior leziuni tuberculoase. În sfîrșit, cazurile de limfom Hodgkin la care s-a putut urmări transformarea leziunii granulomatoase în leziune sarcomatoasă reprezintă un exemplu elocvent de transformarea reacției imune patologice în leziune neoplazică.

Limfomul Burkitt constituie un alt exemplu care ilustrează susceptibilitatea indivizilor cu imunitatea alterată de infecții sau infestații prelungite de a reacționa prin apariția de tumori maligne. Infecția cu virus Epstein Barr rămîne inaparentă sau determină monunucleoză infecțioasă la indivizii cu imunitate normală, așa cum se întîmplă în regiunile temperate. Ea produce un limfom malign caracteristic în regiunile ecuatoriale unde există un indice ridicat de impaludare, sugerînd că tumoarea este reacția patologică a unui organism cu imunitatea alterată de infestația cronică paludică (repartizarea geografică a bolii, centura limfomului Burkitt, coincide cu endemia paludică). O'Conor (1970) avansează părerea că marcata proliferare de limfocite care rezultă din persistenta stimulare antigenică produsă de infestația paludică furnizează mediul necesar proliferării virusului Epstein-Barr, cunoscut prin afinitatea sa pentru limfocite, pe lîngă imunodepresia pe care o produce. Practic, legătura etiopatogenică dintre paludism și limfomul Burkitt a fost demonstrată de scăderea apreciabilă a incidenței neoplaziei în urma acțiunii antipaludice întreprinse în ultimii ani în districtul Mengo din Uganda (Monow și colab., 1976) (fig. 109, 110).

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 109. — Limfom Burkitt: hiperplazie neoplazică limfoblastică cu prezența de macrofage hipertrofiate (aspect de cer înstelat). Col. H-E.

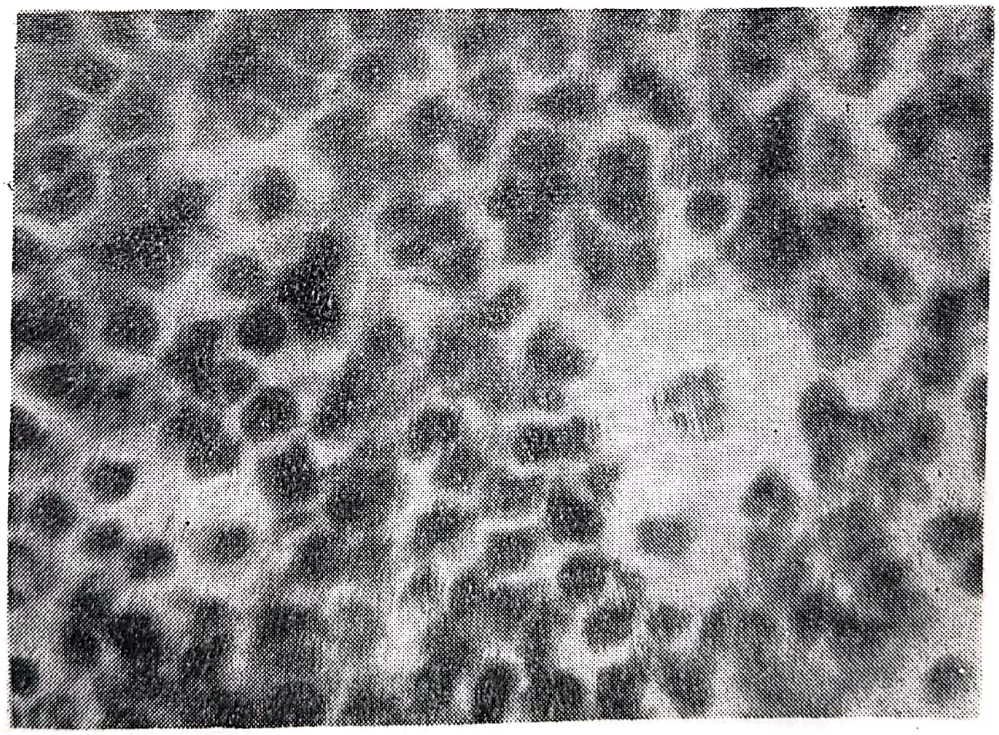


Fig. 110. — Limfom Burkitt.

Scanned with OKEN Scanner

Transformarea reacţiei imune în limfom malign îi este sugerată anatomo-patologului practician de dificultatea de a stabili, în unele cazuri, natura reactivă sau neoplazică a leziunii ganglionare. *Limfomul Brill-Symmers* sau *limfomul nodular* ridică uneori mari dificultăţi în privinţa diferenţierii de limfadenitele virale (mononucleoză, adenoviroze), dar şi de altă natură (toxoplasmoză, sifilis), uneori numai examinările microbiologice-serologice sau numai evoluţia bolii putînd preciza natura bolii. În astfel de cazuri, Ackerman (1964) recomandă amînarea stabilirii diagnosticului şi implicit tratamentului antineoplazic, responsabil uneori de moartea unor inocenţi. Tratarea infecţiei respective duce la regresiunea adenopatiei, ridicînd întrebarea dacă nu, de multe ori, astfel de infecţii tratate incorect, cu evoluţie prelungită, sînt responsabile de apariţia limfomului malign.

O situaţie similară se întîlneşte şi în cazul pacienţilor cu *limfadenopatie imunoblastică* (Lukes şi Tindle, 1973) sau *angioimunoblastică disproteinemică* (Frizzera şi Rappaport, 1974). Boala se caracterizează clinic prin febră, transpiraţii, pierdere în greutate şi astenie progresivă, erupţii cutanate ocazionale, limfadenopatii de obicei multiple sau generalizate, însoţite adesea de hepatosplenomegalie şi uneori anemie hemolitică. Examenul microscopic al ganglionului, spre surpriza clinicianului şi a anatomo-patologului, arată o modificare caracteristică, ce constă în ştergerea structurii organului printr-o proliferare de imunocite (limfocite, limfoblaste, plasmocite), însoţită de o poliferare de vase mici, ramificate şi depunerea de material interstiţial amorf, asemănător hialinului sau amiloidului (fig. 111, 112, 113). Boala survine cu predilecţie la persoane trecute de 50 de ani şi poate duce la moarte prin complicaţii septice; în majoritatea cazurilor s-au obţinut însă supravieţuiri îndelungate (*quo ad vitam*) printr-un tratament cu cortizon şi citostatice. Tabloul anatomo-clinic îl reaminteşte pe cel descris anterior de Westerhausen şi Oehlert (1972), sub numele de sindrom imunoprofiferativ pluripotenţial cronic, sau de Flandrin (1972) ca sarcomatoză plasmocitară difuză.

Importanţa practică a recunoaşterii bolii constă în soluţionarea situaţiilor dificile în care anatomo-patologul se găsea în faţa unei biopsii ganglionare provenite de la un pacient cu simptomele clinice ale unei boli de sistem şi în care structura ganglionului era ştearsă de o hiperplazie granulomatoasă-fibrozantă, în care nu se regăseau însă celulele Reed-Sternberg. În ceea ce priveşte patogeneza bolii, intervenţia unei reacţii imune anormale este sugerată de istoricul bolii şi de natura leziunii. Rappaport (1974) o consideră urmarea unei reacţii grefă-contra-organism. Mult mai plauzibilă pare interpretarea lui Lukes şi Barbara Findle, după care limfadenopatia imunoblastică reprezintă reacţia anormală a organismului la anumite substanţe, în special de natură medica-

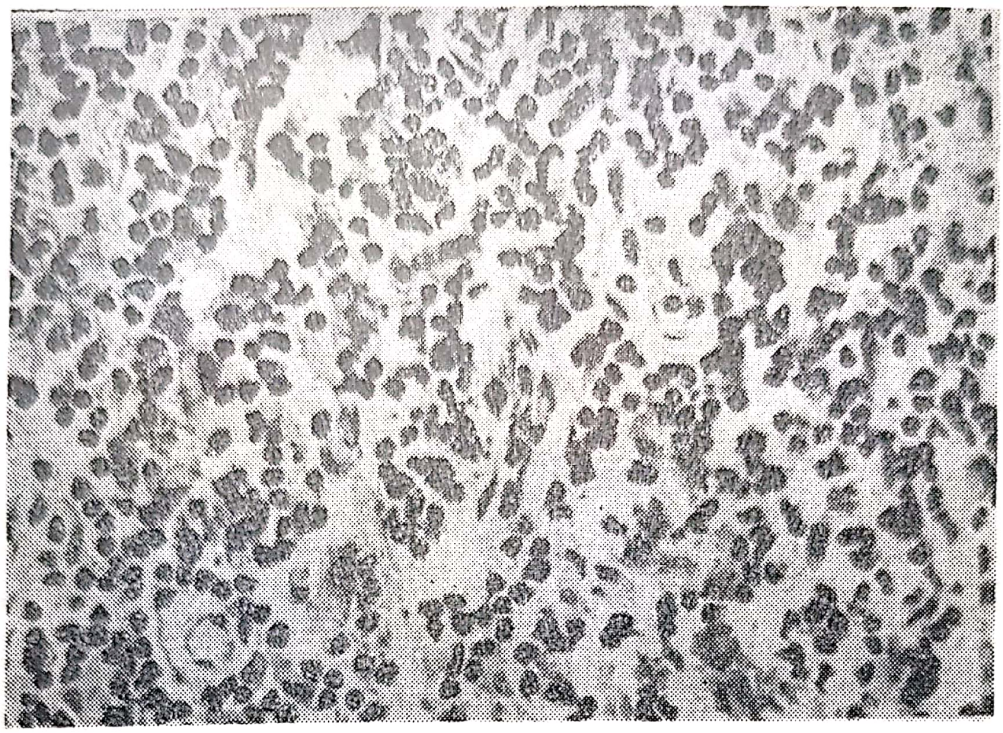


Fig. 111. — Limfadenită angioimunoblastică: hiperplazie de vase mici însoțită de hiperplazie de macrofage, limfocite și plasmocite. Col. H-E.

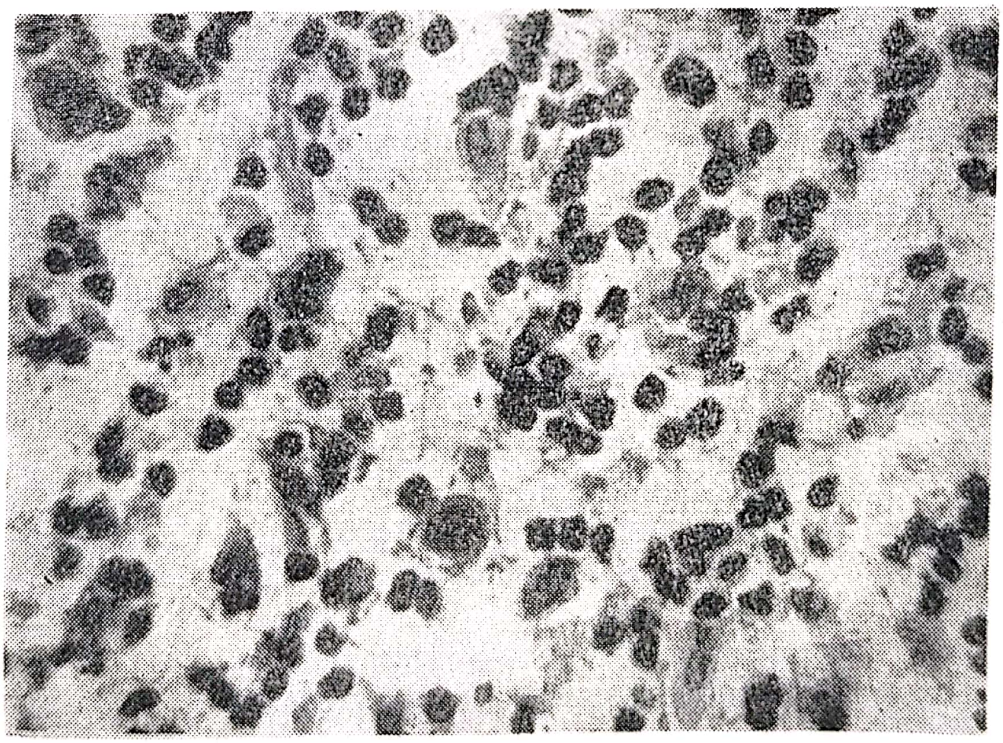


Fig. 112. — Limfadenită angioimunoblastică. Col. H-E.

Scanned with OKEN Scanner

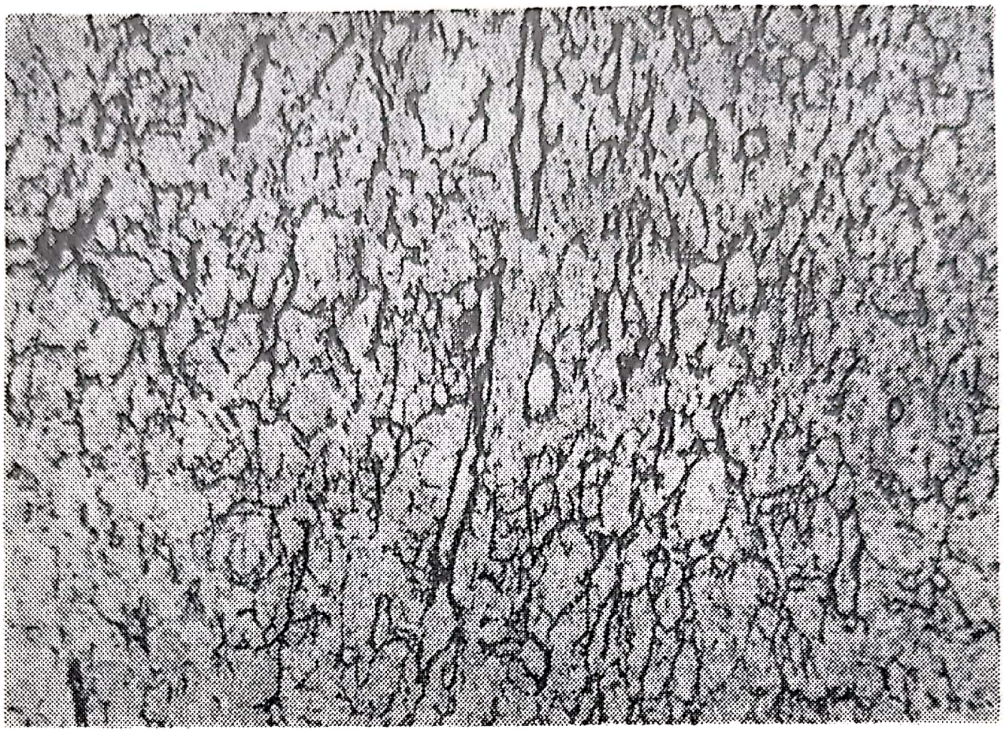


Fig. 113. — Limfadenită angioimunoblastică. Hiperplazie vasculară pusă în evidenţă de impregnare argentică Gömöri.

mentoasă, caracterizată printr-o hiperplazie a limfocitelor B, cu producerea unor mari cantităţi de Ig. La unul din doi pacienţi cu limfadenopatie, pe care am avut ocazia să-i studiem (Simu şi Macavei, 1975), responsabilitatea etiopatogenică a unui tratament prelungit cu Cloramfenicol era evidentă.

Importanţa teoretică a bolii, în privinţa posibilităţii de transformare a reacţiei imune în limfom malign constă în faptul că la unii pacienţi boala evoluează într-un sarcom imunoblastic. Din cele 32 de cazuri studiate de Lukes şi Tindle (1973), 3 au prezentat această evoluţie.

Printre bolile cu patogeneză obscură şi nosologie neprecizată se numără şi cea descrisă de Kempson şi Kyriakos (1972, 1976) sub numele de *histiocitom fibros inflamator* sau *xantosarcom inflamator*. Această boală se caracterizează printr-o evoluţie progresivă sub formă de leziuni multiple care interesează ţesuturile conjunctive sau limfoide. Microscopic se constată hiperplazie histiocitară, uneori atipică, şi apariţia de celule mari vacuolate, xantomatoase. Se întîlnesc şi celule multinucleate, în genul celulelor Touton. Rareori se întîlnesc celule asemănătoare (fără a fi tipice) cu celulele Reed Sternberg, ca şi focare de necroză şi infiltrate cu polinucleare. În general, aceste leziuni evoluează spre fibroză, dar caracterul lor recidivant şi extensiunea din ce în ce mai mare pot să ducă la moarte, sugerînd un xantogranulom care cu timpul s-a transformat într-un histiocitom malign. Caracterul reactiv al bolii, cel puţin în fazele timpurii, este subliniat de

Scanned with OKEN Scanner

faptul că aceasta apare în legătură cu focare de necroză celulară, în special grăsoasă, indusă de traumatisme, radiații, inflamații sau eventuale reacții alergice.

Se discută mult astăzi și despre legătura dintre boala lanțurilor alpha și limfomul mediteranean. *Boala lanțurilor alpha* (Rambaud, 1968) se caracterizează prin proliferarea difuză de plasmocite la nivelul mucoasei intestinale, asociată cu diaree, dureri abdominale și malabsorbție. Este caracteristică secreția unei IgA patologice (de aici și numele de boala lanțurilor alpha), lipsită de lanțuri ușoare și formată numai din lanțuri grele (de unde rezultă denumirea de boala lanțurilor grele). Deși s-au descris forme cu simptomatologie predominant respiratorie, interesarea mucoasei intestinale, ca și a ganglionilor mezenterici de către hiperplazia plasmocitară se regăsește în toate cazurile. Boala se întîlnește la oameni cu condiții de viață precare, din țări subdezvoltate și pare produsă de infecții intestinale repetate, prelungite și incorect tratate, acțiunea unui virus carcinogen invocată de unii cercetători părînd mai puțin probabilă.

Într-adevăr, la cei mai mulți bolnavi, infiltrația plasmocitară constă din celule adulte și se limitează la corionul mucoasei intestinale; în cîteva cazuri s-a obținut vindecarea aparent completă în urma tratamentului cu antibiotice. În alte cazuri însă, progresul leziunilor și prezența lor în alte regiuni (rect, stomac, ficat, căi aeriene superioare) a sugerat diagnosticul de sarcom plasmocitar și a subliniat legătura bolii lanțurilor alpha cu așa-numitul limfom intestinal de tip mediteranean.

Sub numele de *limfom abdominal de tip mediteranean,* Seijffers și colab. (1968) au individualizat o formă de limfom cu debut intestinal și mezenteric, caracterizat prin diaree și malabsorbție și întîlnit la populația de pe malul afro-asiatic al Mediteranei. Leziunea histologică se caracterizează prin hiperplazia pleomorfă de limfocite atipice, uneori cu prezența celulelor de tip histiocitar sau amintind celulele Reed-Sternberg care de multe ori respectă structura medularei. În unele cazuri, modificarea descrisă, interpretată de Lukes și Collins (1974) ca un sarcom imunoblastic, era însoțită de infiltrația plasmocitară a corionului intestinal, similară celei din boala lanțurilor alpha și de producerea de IgA patologică (lipsită de lanțuri ușoare). Ultimul aspect sugerează că aceste cazuri reprezintă forme de trecere între boala lanțurilor alpha și limfomul mediteranean, constituind un exemplu evident de escaladare. Recent (Lewin și colab., 1976) s-a subliniat deosebirea dintre limfomul intestinal de tip mediteranean și cel de tip occidental (din Europa și America de Nord), în care proliferarea limfoidă neoplazică este mai omogenă, lipsește infiltrația plasmocitară iar sindromul de malabsorbție este excepțional.

În legătură cu aceste leziuni limfoide la limita dintre inflamație și limfom trebuie amintit și *granulomul plasmocitar,* care se întîlnește uneori în diferite organe (plămîn, intestin, os) ca o leziune solitară, aparent be-

Scanned with OKEN Scanner

nignă cu aspect histologic pleomorf: nodulul tumoral este format mai ales din plasmocite, dar şi din limfocite sau histiocite. Modificarea apare ca urmare a acţiunii unor factori inflamatori printre care şi iradierea. Îndepărtarea chirurgicală a leziunii reprezintă soluţia terapeutică radicală. De asemenea, un limfom malign poate fi sugerat clinic de o *limfadenită cronică cu histiocitoză sinusală*. Hipertrofia ganglionară este datorită distensiei sinusurilor printr-o hiperplazie histiocitară; se întîlnesc constant celule gigante cu vacuole conţinînd limfocite, granulocite sau plasmocite fagocitate. Se observă la pacienţi cu infecţii cronice respiratorii, produse în special de Klebsiella (Lampert şi Lennert, 1976). Deşi nu s-au remarcat forme de trecere între ultimele două leziuni şi limfomul malign, această posibilitate este sugerată de faptele amintite anterior.

Un important argument asupra posibilităţii transformării unor reacţii imune în limfom malign este furnizat şi de capacitatea unor virusuri herpetice de a produce, în funcţie de împrejurări, leziuni inflamatorii sau neoplazice. S-a menţionat anterior capacitatea virusului Epstein-Barr de a induce, condiţionat de reactivitatea imună a organismului infectat, mononucleoză infecţioasă sau limfom malign. În acelaşi timp, virusul herpetic saimiri, care este purtat în stare latentă de anumite specii de maimuţă, induce limfoame maligne cînd infectează alte specii de maimuţă sau unele rozătoare. Acelaşi fenomen este observat şi cu virusul ateles. De asemenea, virusul herpetic care produce boala Marek sau neurolimfomatoza puilor de găină este cunoscut prin capacitatea sa de a produce concomitent leziuni de natură inflamatorie sau neoplazică. Această capacitate face din boala Marek un model experimental foarte potrivit pentru studiul histologic al transformării unei reacţii inflamatorii în limfom malign (Simu şi colab., 1977). De fapt, capacitatea unor virusuri de a produce, în funcţie de împrejurări, leziuni inflamatorii sau neoplazice a fost subliniată de Zilber (1962) pentru a susţine ipoteza sa asupra unei etiologii virale generale a cancerului. Afirmaţia a fost demonstrată experimental prin studii asupra virusului sarcomului Rous (Zilber, 1962) sau asupra virusurilor adenofaringo-conjunctivale (Trentin şi colab., 1962).

În concluzie, observaţiile anatomo-clinice şi experimentale prezentate sugerează şi de multe ori demonstrează posibilitatea transformării reacţiei imune în limfom malign. Ele justifică presupunerea lui Lukes şi Collins (1974) că cele mai multe, dacă nu toate limfoamele maligne, sînt reacţii imune patologice, blocate într-un anumit stadiu al desfăşurării lor. În acest sens, ei încearcă caracterizarea imunologică a limfoamelor maligne, adică recunoaşterea, prin examinări histologice, histochimice şi imunologice a corespondentului normal al tipului citologic tumoral. Aceasta presupune însă revizuirea nomenclaturii şi schemelor utilizate de clasificările clasice ale tumorilor limforeticulare, în conformitate cu terminologia imunologiei moderne.

Scanned with OKEN Scanner

D. PRINCIPII ACTUALE DE CLASIFICARE A LIMFOAMELOR MALIGNE

Sistematizarea şi în special nomenclatura tumorilor organelor limfoide, aşa cum a rezultat în urma lucrărilor clasice de anatomie patologică, au fost depăşite de rezultatele lucrărilor făcute în ultimii ani asupra structurii şi funcţiei acestor organe.

În cadrul noţiunii de limfosarcom, creată de Virchow (1863) pentru tumorile ganglionare fără manifestări leucemice, Oberling (1929), bazat pe caracterul dualist, limfoid şi reticular al ţesutului limfoid, a separat reticulosarcomul, tumoare plecată din celulele reticulare, spre deosebire de limfosarcoamele derivate din celule limfoide. Celula reticulară era considerată o celulă nediferenţiată, cu potenţial hematogen şi activitate fagocitară, sursă a limfocitelor. În funcţie de gradul de diferenţiere a celulelor neoplazice, care avea implicaţii prognostice, tumorile ţesutului limfoid se clasificau în reticulosarcom, reticulolimfosarcom, limfosarcom limfoblastic şi limfosarcom limfocitar. Brill (1925) şi apoi Symmers (1942) au recunoscut în limfomul gigantofolicular forma incipientă, cu evoluţie prelungită a acestor tumori. Acceptarea acestei clasificări s-a datorat extremei sale simplicităţi şi claritaţi, calităţi esenţiale ale unei clasificări, ca şi incontestabilei valori prognostice.

Clasificarea a început însă să fie depăşită mai ales nosografic, cînd cercetările menţionate au arătat că originea şi proprietăţile limfocitelor şi ale celulelor reticulare sînt cu totul deosebite. Provenind din măduva hematogenă, uneori printr-o escală timică, şi nu din celula reticulară, limfocitele, contrar presupusului proces de diferenţiere pe linie limfoblastică-limfocitară, suferă în ganglioni o modulaţie, transformîndu-se din celule aparent diferenţiate, în celule cu caracter blastic şi apoi din nou în limfocite mature imunocompetente. Celulele reticulare apar ca celule lipsite de proprietăţi hematogene sau fagocitare, fiind corespondente ale fibroblastelor la nivelul ţesutului reticular, unde au rolul de a constitui structura celulară a acestui ţesut şi a genera reţeaua de reticulină. Aceasta, spre deosebire de macrofagele sau histiocitele dispuse la nivelul endoteliilor sinusale, cît şi printre celulele reticulare, de care se deosebesc prin capacităţile lor fagocitare şi originea lor extralimfatică, medulară.

Astfel privite lucrurile, a devenit improprie în primul rînd noţiunea de reticulosarcom, această tumoare plecînd nu din celulele reticulare, ci din macrofage. Calificativele de limfoblastic şi limfocitar atribuite limfosarcomului au devenit mai puţin potrivite, dată fiind referinţa lor la un proces de diferenţiere unidirecţional. Discutabilă în lumina datelor actuale este şi noţiunea de limfom gigantofolicular ca formă independentă de restul limfoamelor, după cum existenţa unei duble proliferări, pe linie

Scanned with OKEN Scanner

limfoidă şi macrofagică (în sensul limforeticulosarcomului) apare ca o eventualitate puţin obişnuită. În sfîrşit, s-a simţit necesitatea stabilirii unei legături mai strînse între limfoame şi tumorile formate pe seama celulelor cu rol în imunitate, dar care nu pleacă din ţesuturile limfatice propriu-zise.

Aceste deficienţe au fost în mare parte înlăturate şi dezideratele împlinite de noile clasificări ale limfoamelor maligne. Meritul lor principal este că stabilesc o concordanţă între noţiunile utilizate de imunologia modernă şi noţiunile de anatomie patologică. Ele permit o mai bună diferenţiere a prognosticului şi implicit a tratamentului. Cu excepţia clasificării lui Rappaport, noile clasificări au deficienţa că sînt complicate, se însuşesc cu relativă dificultate de către anatomo-patologul practician şi coincidenţa de păreri asupra diagnosticului nu este perfectă chiar între specialişti. Perfecţionarea şi simplificarea tehnicilor de laborator (reacţii histoenzimologice, determinări asupra antigenelor sau receptorilor) vor permite probabil în viitorul apropiat o precizie mai mare în stabilirea diagnosticului chiar la nivelul laboratoarelor obişnuite.

Clasificarea lui Rappaport (1966) se bazează pe sublinierea importanţei prognostice a extensiunii proliferării neoplazice la nivelul ganglionului, pe lîngă gradul de diferenţiere al celulelor neoplazice. Deci, pe lîngă definirea naturii şi a gradului de diferenţiere a celulelor tumorale, clasificarea redă stadiul nodular sau difuz al leziunii. Prin aceasta, autorul desfiinţează limfomul Brill-Symmmers ca entitate nosologică, această leziune nefiind decît expresia formelor nodulare ale diferitelor tipuri de limfoame, inclusiv a limfomului Hodgkin.

Clasificarea lui Rappaport recunoaşte următoarele tipuri histologice de limfom malign:

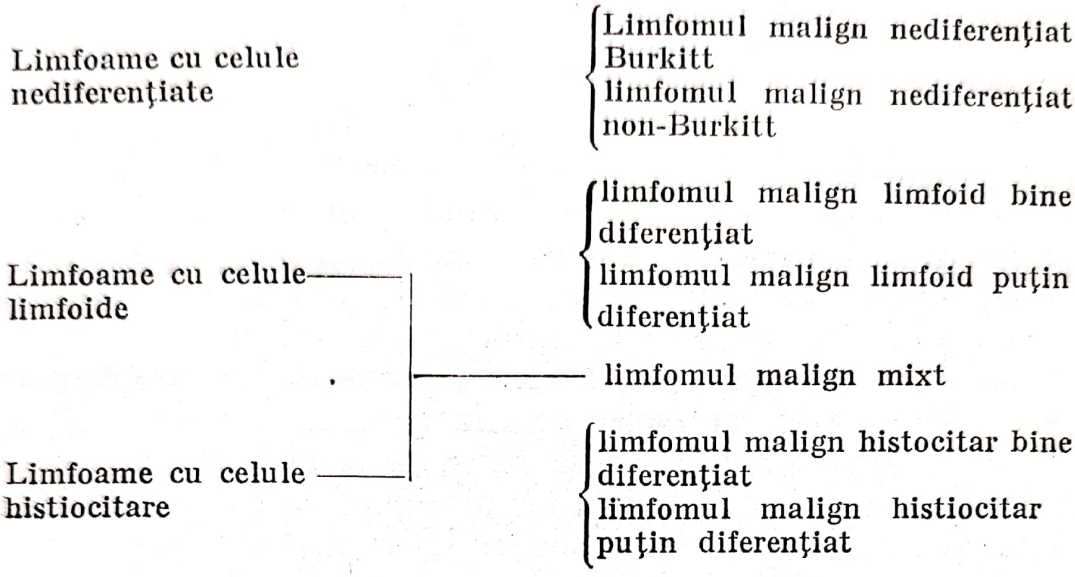
limfocitar bine diferenţiat;
limfocitar puţin diferenţiat;
mixt (limfocitar-histiocitar);
histiocitar,

fiecare avînd o formă nodulară, corespunzătoare limfomului Brill-Symmers, şi o formă difuză, corespunzătoare limfosarcomului limfocitar şi limfoblastic, limforeticulosarcomului şi reticulosarcomului.

Noutatea clasificării constă deci în înlocuirea termenului de „reticular" cu „histiocitar". Aprecierile prognostice, după cum arată studiul lui Jones şi colab. (1973), nu diferă de cele obţinute prin utilizarea vechii clasificări, care şi ea sublinia evoluţia relativ mai lentă a limfomului Brill-Symmers. Calificativul de „bine diferenţiat" atribuit unor limfoame limfocitare este justificat de autor prin asemănarea morfologică şi chiar funcţională a celulelor neoplazice (secretoare de Ig) cu corespondentele lor normale.

Scanned with OKEN Scanner

Recent, în colaborarea cu Mathé, Rappaport (1974) își completează clasificarea cu grupa limfoamelor cu celule nediferențiate (*stem cells, cellules souches*):



Criteriul de diagnostic microscopic al formelor nediferențiate îl constituie pironinofilia citoplasmatică a celulelor în limfomul Burkitt, negativă în celelalte limfoame nediferențiate. Cu această ocazie, Rappaport subliniază și necesitatea integrării într-o astfel de clasificare a unor entități anatomo-clinice legate de limfoamele maligne, cum sînt macroglobulinemia Waldenström, mielomul multiplu, limfomul mediteranean (boala lanțurilor alpha), limfomul mediastinal, micoza fungoidă, sindromul Sézary (eritrodermia generalizată pruriginoasă), care toate reprezintă neoplazii cu celule participante la reacția imună.

Întrucît limfoamele maligne sînt tumori ale organelor imunocompetente, Lukes și Collins (1974) sau Lennert (1971) le clasifică în funcție de asemănarea celulelor neoplazice cu diferitele aspecte ale imunocitelor în cursul procesului de modulare caracteristic reacției imune.

Proliferarea neoplazică este, după acești autori, blocarea într-un anumit stadiu a reacției imune, cu hiperplazia de celule tumorale asemănătoare imunocitelor din stadiul respectiv. Acest stadiu poate fi identificat în primul rînd prin examen microscopic, completat cu examinări histoenzimatice și teste imunologice (punerea în evidență a antigenelor și receptorilor de pe suprafața celulelor tumorale, în special de natură Ig, care caracterizează diferitele tipuri de limfocite). Ambele clasificări insistă asupra transformărilor celulare ce se produc în cursul reacției imune la nivelul centrului germinal folicular, subliniind prin aceasta preponderența limfoamelor maligne generate de limfocitele B.

Clasificarea lui Lukes și Collins (1974) se bazează în mare parte pe faptul că la nivelul centrului folicular se găsesc în mod normal patru

tipuri celulare: celule cu nucleu incizat (*cleaved nucleated cells*), celule cu nucleu neincizat şi citoplasmă intens pironinofilă, macrofage conţinînd corpusculi tingibili (responsabile de aspectul de cer înstelat al zonei) şi celule reticulare dendritice. Primele două varietăţi reprezintă aspecte diferite ale modulaţiei limfocitelor B, ultimele două categorii fiind responsabile de fagocitarea sau reţinerea antigenului.

Sub influenţa celulelor dendritice perifoliculare care reţin şi transmit antigenul, limfocitele mici care formează coroana foliculului trec prin următoarele patru faze vizibile microscopic: nucleul se despică şi apar celule mici cu nucleu incizat; acestea cresc progresiv, ating dimensiunile celulelor cu nucleu neincizat şi citoplasma lor devine moderat pironinofilă (celule mari cu nucleu incizat); într-o fază ulterioară, nucleul ia forma rotundă, incizura dispare, apar nucleoli, pironinofilia citoplasmatică se accentuează (celule mici cu nucleu neincizat); în ultima fază, celula creşte atingînd dimensiuni aproximativ de patru ori mai mari decît limfocitul mic, nucleolii devin foarte aparenţi iar pironinofilia citoplasmatică devine intensă (celule mari, cu nucleu neincizat). Ultimele forme reprezintă celule în diviziune ale centrului folicular, în timp ce celulele cu nucleu incizat reprezintă forme care nu au atins încă faza de diviziune. Pe secţiuni histologice se poate observa cum, în continuare, celulele mari cu nucleu

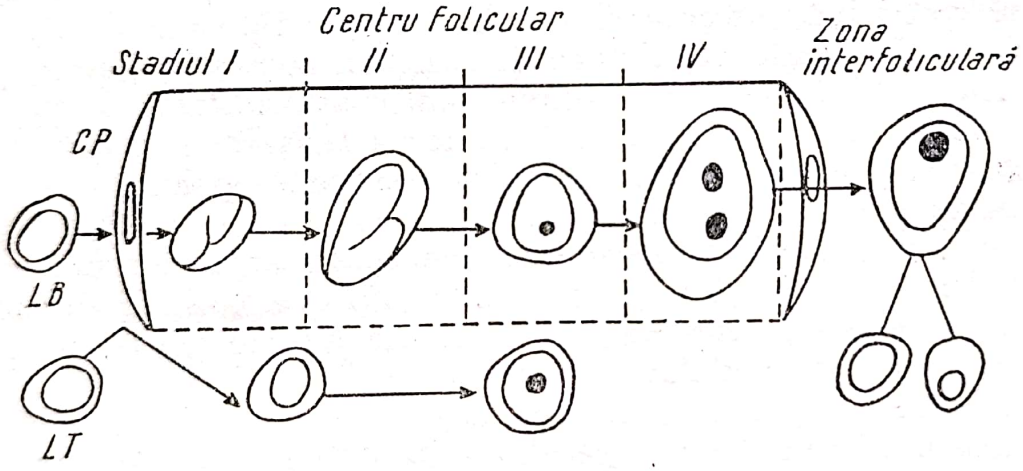


Fig. 114. — Schema transformării celulelor din centrul germinal (după Lukes şi Collins, 1974):
CP=celulă perifoliculară; *LB*=limfocit B; *LT*= limfocit T.

neincizat străbat coroana limfocitară a foliculului şi pătrund în spaţiile interfoliculare, unde se diferenţiază în sens plasmocitar sau revin la aspectul limfocitelor mici cu nucleu rotund, formă de repaus a acestor celule. Concomitent, limfocitele T din zona paracorticală se transformă blastic, ducînd la apariţia de celule cu citoplasmă pironinofilă asemănătoare celulelor mici cu nucleu neincizat (fig. 114).

Scanned with OKEN Scanner

Majoritatea limfoamelor maligne, nodulare sau difuze, amintesc unul din cele patru tipuri întîlnite în cursul modulației limfocitului B, chiar dacă există variații de dimensiune și un anumit pleomorfism datorit transformării maligne. Cînd pleomorfismul este important, denumirea tipului histologic depinde de tipul celular predominant, cu excepția proliferărilor conținînd și celule mari, neincizate, a căror prezență conferă leziunii un prognostic deosebit de grav. Cînd leziunea conține focare formate din astfel de celule sau ele se întîlnesc într-o proporție de cel puțin 25%, ea trebuie etichetată ca atare.

În funcție de aceste considerații, Lukes și Collins formulează următoarea clasificare a limfoamelor maligne:

I) Tipul cu celule nediferențiate
II) Tipuri cu celule T
  — Micoza fungoidă și sindromul Sézary
  — Cu limfocite cu nucleu răsucit (*convoluted lymphocytes*)
  — Sarcomul imunoblastic cu celule T
  — Boala Hodgkin
III) Tipuri cu celule B
  — Cu limfocite mici (leucemie limfocitară cronică)
  — Cu limfocite plasmocitoide
  — Tipuri cu celule ale centrului folicular (nodulare, difuze, nodulare și difuze, sclerozante)
    cu celule incizate mici
    cu celule incizate mari
    cu celule neincizate mici
    cu celule neincizate mari
  — Sarcomul imunoblastic cu celule B
IV) Tipul histiocitar
V) Tipuri neclasificabile.

Pînă acum nu s-au identificat limfoame cu celule nediferențiate, însă existența lor este posibilă teoretic. Determinările de laborator (imunofluorescența la seruri antitimocite, transformarea blastică sub acțiunea PHA) au demonstrat că *micoza fungoidă* și *sindromul Sézary* provin din proliferarea limfocitelor T. *Leucemia limfocitară acută cu limfocite cu nucleu răsucit* pare să fie de asemenea o neoplazie cu celule T. Boala se caracterizează prin prezența unei mase tumorale mediastinale de obicei la pacienți adolescenți. Structura ganglionilor apare parțial sau total modificată de proliferarea unor celule blastice ale căror dimensiuni variază de la limfocitul mic la histiocit. Nucleii au cromatină fină, nucleoli vizibili. În celulele mari, nucleii apar incizați, uneori lobulați, dînd impresia de răsucire. Cînd predomină celulele mari, există numeroase mitoze. Citoplasma este redusă și imprecis conturată. Măduva hematogenă nu este interesată de la începutul bolii. Există o deosebită sensibilitate la radioterapie și steroizi.

Scanned with OKEN Scanner

Celulele neoplazice ar fi corespondentul patologic al timocitelor. Prin analogie cu sarcomul imunoblastic cu celule B, ar putea exista un *sarcom imunoblastic cu celule T*, dar prezența sa nu a fost demonstrată practic.

În sfîrșit, alterarea importantă a componentei celulare a imunității în *limfomul Hodgkin* sugerează interesarea predilectă a limfocitelor T în această boală. Pe lîngă explicațiile patogenetice menționate anterior, se mai presupune că deficiența supravegherii imunologice, datorită în special deficienței funcționale a limfocitelor T, ar permite supraviețuirea unor imunoblaste patologice (celulele Reed-Sternberg), apărute în cursul infecțiilor virale. Boala ar reprezenta expresia conflictului dintre aceste celule patologice și restul sistemului limfoid al organismului.

Majoritatea limfoamelor maligne par însă plecate din celule B, în special din celulele centrului folicular. Astfel, în *limfomul cu limfocite mici*, care apare ca o manifestare tisulară a leucemiei limfocitare cronice, blocajul pare să existe la nivelul contactului dintre celulele dendritice și aceste limfocite. Leziunea se caracterizează printr-o proliferare difuză de limfocite mici, cu nucleu mic, fără incizură. Nu se întîlnesc foliculi de aspect normal, plasmocitele lipsesc și aceasta are ca urmare o hipo- sau agammaglobulinemie. În fazele de acutizare, se pot întîlni celule mai mari, cu cromatina mai fină și nucleoli. O variantă o constituie *limfomul cu limfocite plasmocitoide*, celulele de dimensiuni mai variate avînd un caracter plasmocitar și conținînd incluzii citoplasmatice PAS-pozitive. Acest limfom este expresia tisulară a unor boli imunoproliferative (boala Waldenström, limfomul mediteranean). Poate evolua spre un sarcom imunoblastic sau unul plasmocitar.

Limfomul cu celule incizate mici reprezintă majoritatea limfoamelor nodulare. Celulele, de dimensiunile limfocitelor mici, prezintă constant incizura nucleului. Cromatina este compactă, nucleolii puțin aparenți, mitozele rare. Citoplasma este redusă. În celulele mai mari apar granulații pironinofile.

Limfomul cu celule incizate mari își poate menține o structură parțial foliculară, dar de obicei este difuz și evoluează mai agresiv. Se caracterizează printr-un pleomorfism destul de accentuat: nucleii au în general dimensiunile celor ai histiocitelor normale, cu forme diferite și despicături uneori foarte pronunțate. Există și celule mici, unele cu nucleu rotund. Numărul mitozelor pare a fi proporțional cu al celulelor cu nuclei rotunzi. Pironinofilia citoplasmatică este ceva mai evidentă.

Limfomul cu celule neincizate mici îmbracă fie forma limfomului Burkitt, caracterizat prin uniformitate celulară, fie a unei tumori compuse din celule rotunde mici, dar de dimensiuni inegale. Reprezintă o reacție imună blocată la scurt timp după producerea stimulului, înainte de desăvîrșirea transformării blastice. Nucleii nu depășesc în general dimensiunile nucleilor leucocitelor polinucleare. Citoplasma, intens piro-

Scanned with OKEN Scanner

ninofilă, variază ca dimensiuni în funcţie de dimensiunile nucleului şi prezenţa nucleolilor. Nu se observă spaţii intercelulare. Nucleii, de formă rotundă, au cromatina fină şi nucleoli. Mitozele sînt numeroase.

Limfomul cu celule neincizate mari este rezultatul unei transformări blastice complete. Apare în special după 40 de ani şi, deşi are aspect monomorf, putem întîlni şi celule cu nucleu incizat. Nucleii sînt de aceeaşi dimensiune, depăşind nucleul leucocitelor polinucleare, au formă ovală, cu cromatina fină şi 2—3 nucleoli evidenţi. Mitozele sînt numeroase, citoplasma intens pironinofilă.

Sarcomul imunoblastic se prezintă clinic şi morfologic ca o entitate separată, în cadrul limfoamelor maligne, în sensul că apare brusc la pacienţi care suferă de mai mulţi ani de boli cu componentă imună (reumatism cronic grav, lupus eritematos, sindrom Sjögren, persoane transplantate supuse terapiei imunosupresive, limfom mediteranean, diferite deficienţe imunologice congenitale). Poate apărea şi la indivizi în vîrstă, fără antecedente imunopatologice. Evoluează rapid, ducînd la moarte în 2—3 luni. Autorii consideră boala ca un exemplu tipic de leziune malignă produsă de stimularea antigenică prelungită a organismului, în special la cei cu imunitate congenital deficientă sau alterată de o boală sau de vîrsta înaintată. Se caracterizează microscopic prin proliferare monomorfă de celule mari, cu citoplasmă pironinofilă, prezentînd uneori un aspect plasmocitoid. Nucleul mare, oval, fără incizuri, conţine cromatină fină şi 2—3 nucleoli. Făcînd abstracţie de datele clinice, este greu de diferenţiat de limfomul cu celule incizate mari, foarte asemănător microscopic; tendinţa de diferenţiere plasmocitoidă îl face ceva mai polimorf.

Limfomul histiocitar corespunde reticulosarcomului şi pare să fie destul de rar, întrucît numeroasele tumori interpretate ca atare s-au dovedit, în urma examinărilor de laborator, de natură limfoidă. Este greu de diferenţiat de limfomul cu celule incizate mari sau de sarcomul imunoblastic. Ne gîndim la acest tip histologic, cînd pleomorfismul este mai evident, citoplasma mai abundentă, există fenomene de fagocitoză şi o reţea de reticulină. Cromatina nucleară este mai fină şi nucleolii mai mici decît în celulele blastice limfoide. Unele tumori prezintă o activitate pozitivă a alfa-naftol-acetat-esterazei sau fosfatazei acide. Pe suprafaţa acestor celule nu se pun în evidenţă Ig.

Limfoamele considerate neclasificabile reprezintă cazuri în care tehnica existentă nu permite o apreciere valabilă a naturii celulelor neoplazice.

Clasificarea lui Lennert se bazează, de asemenea, pe caracterizarea tumorii prin analiza corespondenţei celulelor neoplazice cu diferitele aspecte ale imunocitelor în cursul reacţiilor imune. Nomenclatura diferă de cea utilizată anterior, în funcţie de interpretarea şi nomenclatura dată de Lennert celulelor apărute în cursul acestei reacţii, mai ales la nivelul

Scanned with OKEN Scanner

centrului germinal. Astfel, contactul cu antigenul determină transformarea blastică a limfocitului T şi evoluţia lui în limfocite mici imunocompetente. Limfocitele B, cu localizare foliculară, se modulează, în urma contactului cu antigenul, pe două direcţii, consecutiv procesului de transformare blastică. Celule blastice mai mari sau imunoblaste se vor dife-

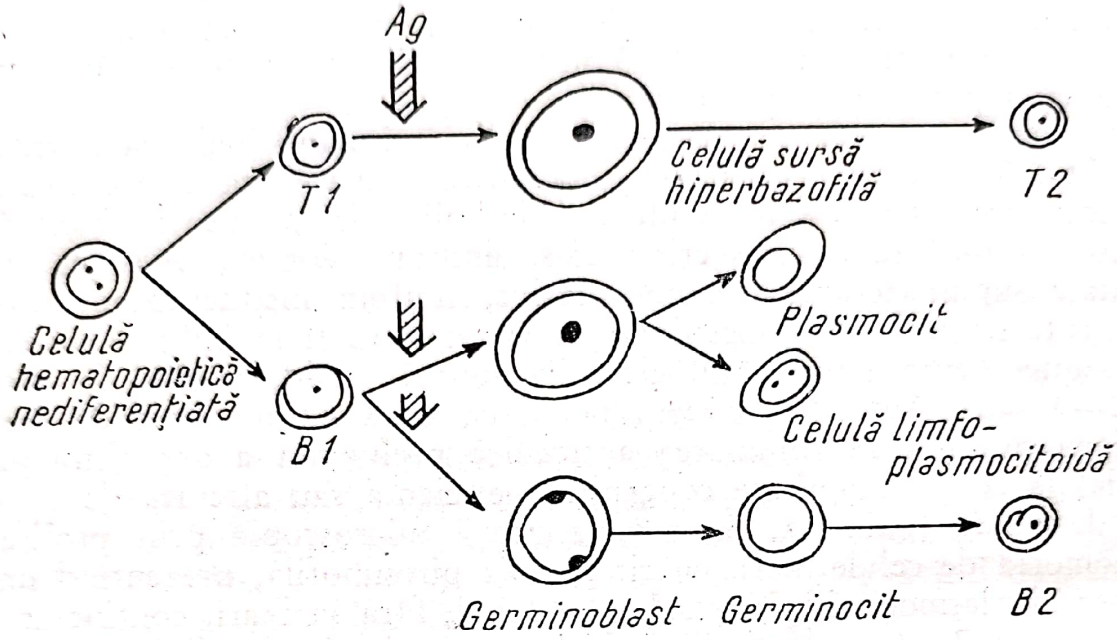


Fig. 115. — Schema transformării celulelor limfoide (după Lennert, 1966).

renţia în plasmocite sau celule limfoplasmocitoide; celule blastice ceva mai mici sau germinoblaste (responsabile de formarea centrului germinal) vor evolua prin stadiul intermediar de germinocite în limfocite B imunocompetente (fig. 115). În ultimul timp, pentru a evita confuziile, Lennert a preferat denumirea de centroblaste şi centrocite în locul celei de germinoblaste şi germinocite. În forma sa finală, clasificarea lui Lennert (1977) se prezintă în felul următor:

I. Limfoame cu celule nedefinite (nici T, nici B)
II. Limfoame T
  1. Micoza fungoidă şi boala Sézary
  2. Limfomul limfoblastic cu celule cerebriforme (pozitive pentru fosfatază acidă)
  3. Sarcomul imunoblastic T?
III. Limfoame B
  1. Limfoame limfocitare
     Leucemia limfocitară cronică
     Leucemia cu celule păroase
  2. Limfoame limfoplasmocitoide
     Macroglobulinemia Waldenström
     Sindromul Sjögren
     Boala lanţurilor grele

Scanned with OKEN Scanner

3. Limfoame cu celule ale centrului germinal (nodulare, difuze, sclerozante)
   Limfomul centrocitar difuz
   Limfomul centroblastic-centrocitar
   Limfomul centroblastic
4. Limfoame limfoblastice B
   Limfomul Burkitt
5. Sarcomul imunoblastic B

IV. Limfoame histiocitare

V. Limfoame neclasificabile (8%)

Din punctul de vedere al prognosticului, se remarcă prin malignitatea lor accentuată în special limfomul B cetroblastic, limfomul limfoblastic B sau sarcomul imunoblastic B, limfomul T cu celule cerebriforme caracterizate prin producerea de fosfatază acidă, precum şi diferitele tipuri de limfoame neclasificabile.

Limfomul centrocitar se recunoaşte prin prezenţa de celule limfoide mici, cu nucleu polimorf, adesea incizat, cu nucleoli foarte mici, abia vizibili. Citoplasma este redusă şi slab bazofilă. Corespunde limfosarcomului limfocitar sau limfomului cu celule centrofoliculare incizate mici. În general se întîlnesc forme difuze, mai rar forme cu o structură nodulară, cu aspect de foliculi primari şi nu de centri germinali. Nu se întîlnesc forme tinere de celule limfoide. În 10% din cazuri există manifestări leucemice.

Limfomul centroblastic corespunde vechiului reticulosarcom sau limfomului B cu celule centrofoliculare neincizate mari. Este format din celule mari cu citoplasmă intens bazofilă sau pironinofilă, nucleu rotund sau oval, cu numeroşi nucleoli. În 25% din cazuri există manifestări leucemice. Între cele două forme descrise se situează *limfomul centroblastic-centrocitar*, corespunzînd formei obişnuite a vechiului limfom folicular sau limfomului cu celule centrofoliculare incizate mici sau mari. Printre numeroase centrocite se întîlnesc într-o anumită proporţie centroblastele. Prin creşterea procentului de centroblaste, evoluţia se agravează şi se ajunge la stadiul de limfom centroblastic.

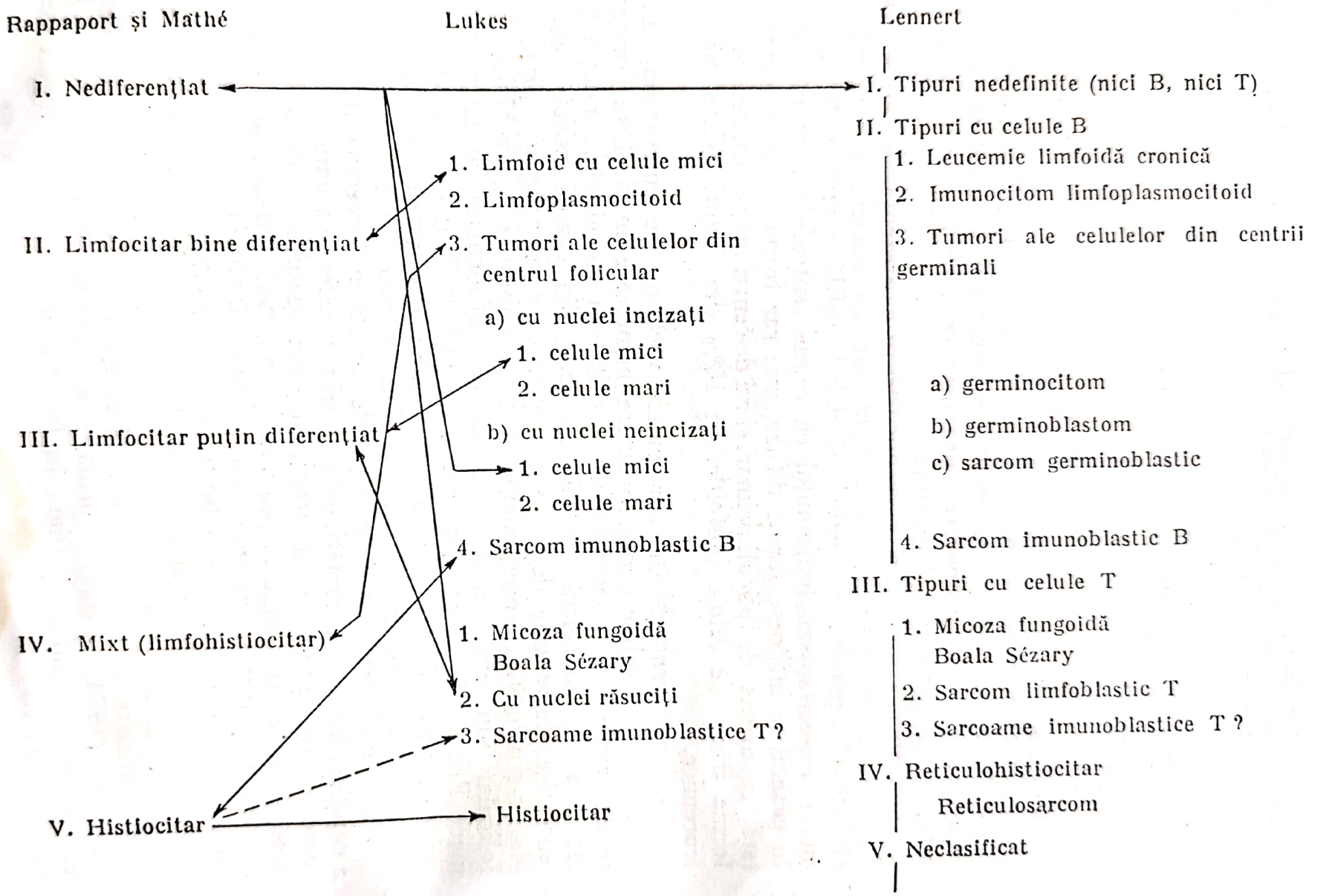
Limfomul limfoblastic corespunde de obicei leucemiei limfoide acute a copiilor, leziunea caracterizîndu-se prin proliferarea unor celule asemănătoare centrocitelor, dar cu citoplasmă mai bazofilă, şi centroblastelor. În această categorie Lennert încadrează *limfomul Burkitt*, descris anterior. În ceea ce priveşte *limfomul sau sarcomul imunoblastic B*, corespunzînd vechiului reticulosarcom sau limfomului histiocitar, el ar preveni din proliferarea limfocitelor transformate blastic şi se caracterizează prin evoluţia deosebit de malignă.

Ca urmare a unor discuţii directe cu Lennert şi Lukes, Gérard-Marchant (1974) a stabilit următoarea schemă de echivalenţă a diferitelor tipuri de limfom malign, în funcţie de cele trei clasificări menţionate (*tabelul IX*):

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul IX

Echivalența limfoanelor maligne (după Gérard-Marchant, 1974)



Salmon şi Seligman (1974) consideră de asemenea că limfoamele maligne reprezintă un stadiu blocat al ciclului de diferenţiere a limfocitelor, în special a celulelor B. După ei, celula de origine a limfocitelor B, celula nediferenţiată pluripotentă din măduva hematogenă este celula B_0. Ea nu produce tumori, întrucît nu reacţionează cu antigenele. Dacă ar produce, acestea ar trebui să fie tumori policlonale, care reacţionează cu diferite antigene şi produc diferite Ig.

Celula B imunologic competentă dar încă virgină de contactul cu antigenul, limfocitul B_1, caracterizat prin prezenţa pe suprafaţa sa a receptorilor Ig, ar produce, prin stimulare inadecvată, leucemia limfocitară cronică sau limfomul limfocitar bine diferenţiat, neoplazii formate din celule cu receptori Ig. Stadiul de imunoblast sau limfocit B_2, indus de contactul cu antigenul, corespunde limfomului limfocitar puţin diferenţiat şi unor cazuri de limfom histiocitar, formate din celule blastice purtătoare de receptori Ig.

Din cele două linii pe care evoluează limfocitele B după transformarea blastică, limfocitele B cu memorie sau limfocitele B_3 ar genera leucemii limfatice cronice. Cealaltă linie, plasmocitară, trece prin stadiul de plasmocit limfocitoid (celulă B_4), producător de IgM, şi plasmocit matur (celulă B_5), producător de IgG, IgA, IgD sau IgE. Celulele B_5 produc mieloamele monoclonale, caracterizate prin secreţia aceluiaşi tip de Ig. Macroglobulinemia Waldenström ar fi generată de celule B_4 şi B_5.

După cum reiese din cele afirmate anterior, ultimele clasificări realizează un acord între nomenclatura utilizată în imunologie şi patologie şi includ în grupul limfoamelor maligne bolile neoplazice şi asemănătoare provenite din proliferarea patologică a imunocitelor. Autorii insistă şi asupra valorii practice a acestor clasificări, ele permiţînd o mai bună diferenţiere a prognosticului. După Lukes (1974), observaţii preliminare arată că toate cazurile etichetate ca forme nodulare şi deci cu prognostic relativ favorabil, prezentau tumori cu celule ale centrului folicular de cele mai multe ori avînd nucleu incizat. Pacienţii cu tumori cu celule cu nucleu neincizat supravieţuiesc în medie mai puţin de un an şi excepţional mai mult, dacă au fost diagnosticaţi şi trataţi într-un stadiu foarte incipient. S-a menţionat deja prognosticul cu totul infaust al sarcomului imunoblastic.

Concordanţa dintre noţiunile de anatomie patologică şi imunologie stabilită de aceste clasificări deschide perspective pentru perfecţionarea clasificării, ca şi pentru o mai bună înţelegere a aspectelor normale ale imunităţii din studiul aspectelor sale patologice. Lukes insistă asupra analogiei care există între limfoamele maligne, procese exprimînd o hiperplazie patologică de imunocite blocate într-un anumit stadiu al reacţiei, şi deficienţele imune congenitale: şi în bolile din această ultimă categorie se constată o incapacitate a organismului de a depăşi un anumit stadiu de

Scanned with OKEN Scanner

diferenţiere a imunocitelor, ceea ce se exprimă clinic prin diferitele tipuri de deficienţe imune. Pe măsură ce celulele neoplazice vor fi studiate mai aprofundat din punct de vedere imunologic, paralelismul dintre limfoame şi deficienţele imune ar putea apărea mai strîns. Interpretarea celulelor neoplazice ca imunocite deficiente ar putea furniza o mai bună înţelegere a mecanismelor de desfăşurare a reacţiei imune, după cum studiul defectelor de coagulare a constituit baza înţelegerii fenomenului de coagulare normală.

Deficienţele clasificărilor discutate, lipsa de concordanţă între practicieni experimentaţi şi dificultatea executării probelor histoenzimatice şi imunologice complimentare într-un laborator obişnuit nu exclud posibilitatea aplicării lor cu folos în institute specializate, unde atît anatomopatologii, cît şi clincienii sînt cunoscători ai acestor probleme. Există perspectiva ameliorării metodelor de identificare a naturii şi gradului de diferenţiere a celulelor neoplazice prin metode imunologice, histoenzimologice sau microscopice susceptibile de standardizare. De exemplu, în conformitate cu sugestiile lui Wegmann (1974), s-ar putea obţine o caracterizare mai precisă a stadiului de diferenţiere a imunocitelor patologice prin procedee de histoenzimologie cantitativă prelucrate la calculator electronic. În acest sens, se recomandă determinarea activităţii unui număr cît mai mare de enzime, în special a dehidrogenazelor. De asemenea, Polliack (1976) şi-a publicat recent observaţiile făcute cu ajutorul metodei microscopului electronic în relief (*scanning electron microscope*) în conformitate cu care celulele neoplazice limfoide sau histiocitare îşi păstrează de cele mai multe ori caracteristicile de suprafaţă, permiţînd recunoaşterea naturii lor.

Scanned with OKEN Scanner

VIII

APLICAȚII PRACTICE. IMUNOPROFILAXIA ȘI IMUNOTERAPIA

Rubin Popa obișnuia să încheie o discuție științifică cu dubla întrebare: ce aduce nou problema discutată și ce importanță practică are.

În cazul imunității antitumorale, fără îndoială, rezultatele cercetărilor aduc o serie de noutăți științifice, una mai interesantă decît cealaltă, ceea ce explică pasiunea cercetătorilor din specialități atît de diverse pentru această problemă. Este mai greu să se răspundă, cel puțin pentru moment, la a doua parte a întrebării. Fără să se împărtășească scepticismul celor care compară importanța practică a imunității antitumorale cu existența industriei române la sfîrșitul secolului trecut, este într-adevăr dificil să se vorbească de eficacitatea acestei reacții, așa cum se poate vorbi, de exemplu, de marea eficacitate a imunității antiinfecțioase. Totuși, cel puțin perspectivele imunoprofilaxiei și în special ale imunoterapiei cancerului apar clare și multiple, sub rezerva ameliorării cunoștințelor teoretice și a posibilităților lor practice de aplicare. Aceasta, pe lîngă alte posibilități de aplicare practică a rezultatelor studiilor de imunologie antitumorală.

A. CLASIFICĂRI HISTOLOGICE CU VALOARE PROGNOSTICĂ

S-a menționat importanța infiltratului inflamator interstițial din carcinomul medular al glandei mamare, ca expresie a rezistenței active a organismului, în individualizarea anatomo-clinică a acestei forme de cancer mamar. Evidențierea microscopică a acestei reacții permite, în ciuda anaplaziei celulare, formularea unui prognostic relativ favorabil.

Scanned with OKEN Scanner

B. CARACTERIZAREA IMUNOLOGICĂ A LIMFOAMELOR MALIGNE

Așa cum este concepută de Lukes și Collins (1974) sau Lennert (1970), permite deja și, mai ales, va permite — după ce ameliorările de tehnică vor asigura recunoașterea cu mai mare precizie a naturii celulelor tumorale —, o mai bună diferențiere a prognosticului și tratamentului.

C. STABILIREA PROGNOSTICULUI ÎN FUNCȚIE DE MODIFICĂRILE HISTOLOGICE ALE GANGLIONILOR REGIONALI

Metoda s-a dovedit prețioasă în special în localizarea mamară a cancerului, dar și în alte localizări (tumori digestive, tumori ale căilor aeriene superioare, tumori bronhopulmonare etc.).

D. DIAGNOSTICUL IMUNOLOGIC AL TUMORILOR MALIGNE

Diagnosticul imunologic al tumorilor maligne a devenit o metodă curentă în unele localizări, în special în hepatoame (alfa-feto-proteina) sau în tumorile digestive (antigenul carcinoembrionar), permițînd de cele mai multe ori previziunea recidivelor clinice. În această ultimă direcție, studiul comportării IgG s-a dovedit de asemenea de mare valoare. Există toate premisele pentru punerea la punct a unor metode de diagnostic imunologic precoce al cancerului.

E. IMUNOPROFILAXIA ȘI IMUNOTERAPIA CANCERULUI

Realizări eficiente în aceste domenii ar reprezenta adevăratul succes practic al cercetărilor de imunologie antitumorală, ar reprezenta răspunsul afirmativ la a doua parte a întrebării lui Rubin Popa. La ora actuală, controlul imunologic al cancerului poate fi comparat cu situația stării a treia în momentul începerii Revoluției franceze: n-a însemnat nimic în trecut, înseamnă astăzi ceva și poate însemna totul în viitor.

1. IMUNOPROFILAXIA CANCERULUI

Imunoprofilaxia cancerului este o problemă foarte dificilă, datorită etiologiei multiple, complexe a bolii și antigenicității diferite a diverselor localizări ale tumorii maligne. Pentru viitorul mai îndepărtat se pune

Scanned with OKEN Scanner

problema posibilității imunizării profilactice a unor grupe de populație care prezintă un risc crescut pentru o anumită formă de cancer. De exemplu, demonstrarea etiologiei virale în unele forme de cancer uman, cum sînt cel de col sau glandă mamară, ar crea posibilitatea vaccinării profilactice a femeilor din grupele de vîrstă cu incidență ridicată a acestor forme. O metodă importantă de imunoprofilaxie a bolii canceroase ar putea fi constituită și de stimularea nespecifică a imunității persoanelor trecute de 40—50 de ani cu vaccinuri cu valoare demonstrată în acest sens, cum este în special vaccinul BCG, sau medicamente cu acțiune energică în același sens, cum este levamisolul. Pentru moment, imunoprofilaxia cancerului rămîne o problemă de perspectivă mai îndepărtată.

2. IMUNOTERAPIA CANCERULUI

Dimpotrivă, ne găsim în plină acțiune experimentală și chiar de aplicare clinică a imunoterapiei cancerului. Rezultatele clinice încă puțin încurajatoare, deși în cîteva cazuri substanțiale, se datoresc în special timidității cu care se aplică metoda, timiditate în mare parte justificată de cunoașterea incompletă a tuturor aspectelor imunității antitumorale. Inducerea unui fenomen de facilitare, în locul rezistenței dorite, reține de cele mai multe ori experimentatorul de la aplicarea imunoterapiei în cazuri incipiente de cancer, unde metoda ar avea șanse maxime de eficiență. După cum subliniază Southam (1967), tratamentul imunologic va fi eficient numai dacă va fi aplicat într-un stadiu inițial al cancerului, după cum metodele imunologice sînt eficiente în tratamentul bolilor infecțioase, numai dacă sînt aplicate în stadiul timpuriu. Din această cauză, nu se pot aștepta succese terapeutice la pacienți cu forme avansate de cancer. Imunoterapia ar fi deci eficientă la pacienți cu forme timpurii de cancer sau la cei la care cea mai mare parte a tumorii a fost înlăturată chirurgical sau radiologic, rămînînd numai focare de țesut tumoral (așa-numitul „cancer rezidual minimal").

După clasificarea lui Southam (1975), imunoterapia cancerului poate fi activă și pasivă, fiecare categorie prezentînd mai multe variante.

a) **Imunoterapia activă** presupune stimularea capacității de reacție imună a pacientului prin metode nespecifice, specifice sau așa-zis instrucționale.

— *Imunoterapia nespecifică* stimulează reacția imună prin substanțe neînrudite antigenic cu tumoarea. De obicei se folosesc *imunostimulatori generali* sau *adjuvanți care cresc antigenicitatea vaccinurilor*. Ca stimulator general nespecific, dar avînd și capacitatea de a stimula în anumite condiții reacții antitumorale specifice, a fost mult utilizat în ultimul timp, experimental și în clinică, *vaccinul BCG*. Proprietatea acestui vaccin de a stimula eliminarea tumorilor maligne a fost descoperită de Biozzi și

Scanned with OKEN Scanner

colab. (1956) şi a fost mult studiată experimental şi clinic de către Mathé şi Amiel (1967, 1972). Administrarea vaccinului BCG produce efecte apreciabile în tratamentul leucemiilor murine (Amiel, 1967), putînd duce la distrugerea totală a populaţiei de celule leucemice şi vindecare. Rezultatele pot fi ameliorate prin asocierea chimioterapiei, însă numai în anumite condiţii. Astfel, Mathé şi colab. (1971) au arătat că această asociere este eficace numai dacă imunoterapia cu BCG este consecutivă chimioterapiei citoreducătoare intensive. Aplicarea chimioterapiei după imunoterapie sau aplicarea concomitentă, chiar intermitentă a chimioterapiei, anulează efectele favorabile ale imunoterapiei prin acţiunea toxică asupra imunocitelor. La un an după imunoterapie simplă cu BCG, numai 3 din 27 de pacienţi cu leucemie acută au prezentat recidiva bolii, spre deosebire de 19 din 28, la care imunoterapia s-a combinat cu chimioterapia. Rezultate bune în tratamentul aceleiaşi boli au fost obţinute şi de Davignon şi colab. (1970). S-au menţionat rezultatele obţinute de aplicarea vaccinului în tratamentul melanomului malign (Morton şi colab., 1970), utilizîndu-se şi administrarea intratumorală (Libermann şi colab., 1975). Aplicarea intrapleurală a vaccinului a prelungit semnificativ supravieţuirea unor pacienţi cu cancer bronhopulmonar (McKneally şi colab., 1976). Acţiunea vaccinului pare determinată în special de creşterea nespecifică a reacţiei imune, care se exprimă prin pozitivizarea unor reacţii de hipersensibilitate întîrziată. Administrarea poate fi urmată de apariţia de abcese, febră, stare generală rea, bacteriemie. În două cazuri, reacţii exagerate de hipersensibilitate au dus la moartea pacientului, după inocularea intratumorală (McKhann şi Gunnarson, 1974). Cea mai bună formă de administrare pare să fie prin scarificare cutanată sau intratumoral, în tumori superficiale, în asociaţie cu imunoterapie specifică. Longhin (1975) a expus recent rezultate experimentale asupra acţiunii desensibilizatoare şi autostimulante a BCG. Utilizarea vaccinului duce la scăderea reactivităţii ţesuturilor faţă de substanţele alergene, în general, şi mediatorii alergici, în special, ca şi la diminuarea cantităţii de mediatori alergici din ţesuturi şi a precursorilor acestora. Aceasta explică rezultatele bune obţinute mai cu seamă în amendarea fenomenelor paraneoplazice, unele cu un substrat inflamator-alergic.

S-au preconizat şi alţi stimulatori nespecifici, cum ar fi *Corynebacterium parvum* (Amiel şi colab., 1969), vaccina (Hunter-Craig şi colab., 1970), bacilul pertusis (Guyer şi Crowther, 1969) sau DNCB (Stjernswärd şi Levin, 1971), fără ca rezultatele să recomande în mod deosebit vreuna din metode. S-a menţionat anterior că rezultatele excelente obţinute de utilizarea *levamisolului* în tratamentul virozelor, datorită proprietăţilor deosebite ale substanţei de a stimula reacţiile de imunitate celulară, au recomandat medicamentul pentru imunoterapia cancerului. Rezultatele preliminare sînt foarte promiţătoare (Rojas şi colab., 1976;

Scanned with OKEN Scanner

Renoux și Renoux, 1976), dar ele trebuie verificate prin noi observații. În același sens s-au menționat, în legătură cu imunoterapia cancerului mamar, metoda utilizată de Chiricuță și colab. (1974) pentru stimularea nespecifică a imunității cu *Polidin*.

— *Imunizarea activă specifică* (vaccinare) ar reprezenta teoretic cea mai eficientă metodă de imunoterapie, cu condiția separării și purificării antigenului tumoral. Ea comportă două aspecte principale:

α) — *Administrarea de antigen tumoral specific* sub formă de *celule sau fracțiuni de celule tumorale* sau de *antigene extrase din celule tumorale*. Mult timp s-au făcut încercări cu celule tumorale autoloage atenuate prin diferite metode, în special prin iradiere (Ikonopisov și colab., 1970; Bloom și colab., 1973; Morton și colab., 1973; Currie, 1973). Bazat pe studii experimentale asupra posibilităților de atenuare (Donovan și colab., 1971: Maltezianu și colab., 1971), Costăchel și colab., (1970) au utilizat imunoterapia cu celule tumorale autoloage atenuate prin înghețare și dezghețare, iradiere, citostatice sau ser specific. Vaccinul a fost aplicat la 49 de pacienți sub formă de grefă epidermică, pe suprafața excoriată a pielii, timp de 24—48 de ore. S-au obținut ameliorări ale stării pacientului în special în cazuri de leucemii, limfoame maligne, mastite carcinomatoase, alte tumori mamare.

Punerea în evidență a unei comunități antigenice între tumori cu aceeași localizare a sugerat utilizarea de celule tumorale alogenice inactivate, a căror antigenicitate este crescută și de prezența antigenelor HL-A (Moore și colab., 1973). S-a pus și problema creșterii antigenicității celulelor tumorale prin alte metode, cum ar fi cuplarea cu antigene puternice (serumalbumină bovină) (Czajkowski și colab., 1967) sau tratarea cu neuraminidază (Simmons și colab., 1971; Seilger și colab., 1973), care îndepărtează stratul de acid sialic de la suprafața celulelor tumorale, făcîndu-le mai accesibile recunoașterii imunologice.

Chiricuță, Titus Mureșian, Cornelia Todoruțiu, Rodica Rișcă și Rodica Mulea (1970), pornind de la considerația că s-ar putea crește antigenicitatea celulelor tumorale prin infecția lor cu un virus, au obținut un indice semnificativ prelungit de supraviețuire la șoareci purtători de carcinon ascitic Ehrlich prin vaccinarea lor prealabilă cu celule Ehrlich infectate cu virus Coxsackie. Același efect se obține prin tratarea celulelor tumorale cu Concanavalina A, care legîndu-se de suprafața lor, le crește imunogenicitatea (Simmons și Rios, 1974).

Din celulele tumorale pot fi preparate și extracte solubile, din care antigenul este purificat și concentrat, fără să-și piardă capacitățile imunogene (Humphrey și colab., 1971; Kahan și Reisfeld, 1972), putînd fi conservat timp mai îndelungat. Problema acțiunii blocante a unui astfel de vaccin trebuie însă totdeauna avută în vedere.

Scanned with OKEN Scanner

β) — *Administrarea de antigene din agentul oncogen* reprezintă de fapt prepararea de vaccinuri din virusurile oncogene. Metoda şi-a dovedit eficienţa în cazul tumorilor experimentale şi este preconizată în cazul cînd se va demonstra natura virală a unor tumori umane.

— *Imunizarea instrucţională* este reprezentată de metode care utilizează anumiţi factori apăruţi în cursul reacţiei specifice dintr-un organism pentru a „instrui" producerea aceleiaşi reacţii în alt organism. De exemplu, se preconizează utilizarea de (α) *ARN imun extras din imunocitele unui donator imunizat* faţă de tumoarea respectivă, care, în conformitate cu datele experimentale, sînt capabile să antreneze limfocite nesensibilizate în acţiuni imune faţă de antigenul respectiv. Pentru moment, există dificultăţi tehnice deosebite în punerea în practică a acestei metode (Deckers şi Pilch, 1972). Mai realizabilă pare (β) *instrucţia prin factor de transfer* de la donatori imuni. Întrucît s-au obţinut succese prin această metodă în combaterea bolilor infecţioase, s-a încercat aplicarea ei la pacienţi cu cancer. Sursa de factor de transfer poate fi o persoană inoculată cu celule tumorale inactivate, pacienţi vindecaţi de o formă identică de cancer sau membrii sănătoşi ai familiei pacientului, care de multe ori prezintă evidente reacţii imune faţă de tumoarea respectivă. În acelaşi sens s-a recomandat factorul de transfer, preparat de la femei sănătoase, în tratamentul cancerului mamar, presupunînd rezistenţa activă a acestor femei împotriva tumorii respective, sau de la indivizii normali care reacţionează pozitiv la virusul Epstein-Barr, în tratamentul cancerului nazo-faringian. Metoda, în ciuda dificultăţilor tehnice, rămîne ca una din cele mai de perspectivă în imunoterapia cancerului (Lo Buglio şi Neidhart, 1974).

Printre metodele de imunoterapie activă trebuie menţionate şi încercările de stimulare, nespecifică sau specifică, a competenţei imunologice a limfocitelor. Astfel, Costăchel şi colab. (1971) au stimulat limfocitele pacienţilor cu cancer prin contactul *in vitro* cu PHA, ser antilimfocitar sau limfocite alogenice, după care le-au reinoculat pacienţilor respectivi. Prin această metodă, ei au obţinut cele mai consistente rezultate în regresiunea tumorii sau amendarea fenomenelor paraneoplazice. McKhann şi Jagarlamoody (1971) au preconizat expunerea limfocitelor unui pacient cu cancer la propriile celule tumorale cultivate *in vitro*, ceeea ce duce, de fapt, la creşterea capacităţii lor citotoxice. Aceste limfocite cu funcţia exaltată, după o cultivare de 3—4 zile, sînt reinoculate pacientului. Abstracţie făcînd de dificultăţile tehnice (în special evitarea reinoculării de celule tumorale vii), metoda apare ca una din cele mai realizabile în condiţiile tehnice actuale. Ea încearcă să evite fenomenul de blocare, ca şi bariera endotelială, care *in vivo* împiedică o sensibilizare eficientă a limfocitelor.

Scanned with OKEN Scanner

b) **Imunoterapia pasivă.** Metodele de imunoterapie pasivă nu necesită producerea unei reacţii imune active din partea organismului purtător de tumoare. S-a preconizat administrarea de ser de la pacienţi vindecaţi de aceeaşi varietate tumorală sau de la animale vaccinate faţă de tumoarea respectivă. Uneori, din aceste seruri s-au preparat anticorpi purificaţi. Nu s-au obţinut rezultate concludente (Björklund şi colab., 1975; de Carvalho, 1962) (α — *imunoterapie pasivă propriu-zisă*).

O altă variantă este β — *imunoterapia adoptivă* care, pe baza importanţei fenomenelor de imunitate celulară în rezistenţa contra cancerului, recomandă administrarea de celule imunocompetente. Aceste imunocite pot sau nu să fie sensibilizate faţă de tumoarea pacientului tratat. Sensibilizarea se poate face prin contactul *in vitro* cu celulele respective. Avantajul metodei constă în transferul unei imunităţi active, de cele mai multe ori specifice, care, spre deosebire de anticorpi, îşi poate manifesta mult timp activitatea. Dificultăţile metodei, la om, constau în rezolvarea problemei histoincompatibilităţii dintre donator şi receptor. Acest lucru este posibil la tulpinile pure de animale. Curînd după demonstrarea rolului limfocitelor în imunitate, Koldovsky şi Lengerova (1960) au obţinut prelungirea supravieţuirii unor animale purtătoare de tumori prin transfuzia de limfocite izogenice provenite de la animale sensibilizate faţă de tumoarea respectivă. Bazîndu-se pe rezultate pozitive obţinute prin inocularea de limfocite alogenice la animale purtătoare de tumori cu imunitatea deprimată, Woodruff (1964) a încercat tratamentul unor pacienţi cu cancer supuşi unei moderate terapii imunodepresoare cu transfuzii de limfocite alogenice. S-au obţinut unele modificări clinice şi histopatologice care au putut fi puse pe seama acţiunii acestor limfocite, fără ca semnificaţia rezultatelor şi dificultăţile metodei să permită perseverarea pe această cale. Transfuzii de limfocite de la donatori sensibilizaţi faţă de tumoarea respectivă ar permite o reacţie secundară rapidă, putînd produce leziuni apreciabile ale tumorii. Costăchel şi colab. (1971) au administrat cîtorva pacienţi cu cancer limfocite alogenice sensibilizate prin contact prealabil cu PHA, ser antilimfocitar sau limfocite alogenice, precum şi limfocite ce proveneau de la animale vaccinate cu mixturi celulare conţinînd sau nu tumoarea respectivă. S-au obţinut efecte pozitive în ceea ce priveşte regresiunea tumorii în 27% din cazuri, iar în ceea ce priveşte contextul paraneoplazic, în 51% din cazuri. Dificultăţile ridicate de histoincompatibilitate rămîn deocamdată covîrşitoare.

S-a utilizat la unii pacienţi cu cancer şi tratamentul cu suspensii de *macrofage*, obţinîndu-se unele rezultate. Metoda este foarte costisitoare şi injecţiile repetate duc curînd la reacţii puternice ale pacientului împotriva acestor celule. Rezultatele constituie o probă în plus care pledează pentru importanţa macrofagelor în imunitatea antitumorală (Marx, 1974).

Scanned with OKEN Scanner

c) **Alte metode de imunoterapie.** Particularităţile imunităţii antitumorale permit intervenţia şi la alte niveluri ale reacţiei imune, în scopul creşterii eficienţei sau deblocării acesteia. În acest sens, există încercări de anulare a efectului de facilitare a proliferării tumorale sau a celui de blocare a acţiunii citolitice a limfocitelor.

— Se preconizează astfel *îndepărtarea din circulaţie a anticorpilor facilitanţi,* prin metode specifice (ceea ce momentan este mai greu) sau nespecifice (îndepărtarea celei mai mari părţi a imunoglobulinelor). Ambele metode sînt foarte dificile şi cu rezultate destul de efemere, anticorpii revenind la valori normale sau chiar crescute la scurt timp după efectuarea operaţiunii.

— S-a sugerat *suprimarea persistentă a anticorpilor* prin administrare de ser antiplasmocitar. La şoareci s-au preparat astfel de seruri faţă de celulele din mielom, care, spre a menaja limfocitele T, au fost în prealabil absorbite cu aceste celule. Injectarea lor a produs de fapt inhibarea producţiei de anticorpi, fără alterarea fenomenelor de imunitate celulară (reducerea plăcilor de hemoliză după tehnica lui Jerne şi a rozetelor după sensibilizare, cu păstrarea numărului normal de rozete spontane). Prin aceasta s-a obţinut de către Jagarlamoody şi McKhann (1972) o semnificativă reducere a creşterii sau chiar inhibiţia completă a transplantelor de tumori induse chimic la şoarece.

— În sfîrşit, plecîndu-se de la observaţia apariţiei rapide a acţiunii deblocante a serului (exercitată probabil de anticorpi liberi de antigen) după îndepărtarea tumorii din organism, s-a imaginat teoretic posibilitatea aplicării unor metode de *îndepărtare a excesului de antigen* prin accelerarea eliminării lui din circulaţie sau suprimarea producerii lui.

3) CONCLUZII

Problemă extraordinar de complexă, în care aspectele deosebit de interesante abundă alături de aspecte contradictorii, uneori demoralizante, *imunoterapia cancerului* reprezintă în ultimă analiză, alături de etiopatogeneză, esenţa problemei. Orice progres în acest domeniu înseamnă un progres substanţial în rezolvarea bolii. Acum cinci ani nu se puteau cita rezultate concrete obţinute prin tratamentul imunologic al cancerului. Astăzi trebuie să admitem că cel puţin în unele forme de cancer s-au obţinut supravieţuiri remarcabile prin imunoterapie, în special prin imunoterapie nespecifică. Şi numai acest ultim aspect justifică pasiunea şi eforturile cercetătorilor din acest domeniu al ştiinţelor medicale şi conferă lucrărilor lor strălucirea speranţei.

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOGRAFIE

ABELEV G.: Study of the antigenic structure of tumors. *Acta U.I.C.C.*, 1963, 19, 80—82.

ABELEV G.: Production of embryonal serum alpha-globulin by hepatomas: review of experimental and clinical data. *Cancer Res.*, 1968, 28, 1344—1350.

ACKERMAN L. A.: Surgical pathology, C. V. Mosby Co., Saint Louis, 1964.

ADELSTEIN E. H., BARETT B. A. L., SENHAUSER D. A.: Ultrastructure of. lymphocyte tumor cell interaction with localisation of cellbound antiboby by ferritin labeling. *Cancer Res.*, 1976, 36, 302—308.

AGEEV A. K.: Morphological changes of the thymus in cancer. *Vop. Onkol.*, 1970, 16, 3—7.

AISENBERG A. C.: Studies of lymphocyte transfer reactions in Hodgkin's disease. *J. Clin. Invest.*, 1965, 44, 555—564.

ALEXANDER P.: Foetal „antigens" in cancer. *Nature*, 1972, 235, 137—140.

ALLISON A. C., MONGA J. N., HAMMOND V.: Increased susceptibility to virus oncogenesis of congenitally thymus-deprived nude mice. *Nature*, 1974, 252, 746—747.

AMIEL J. L.: Immunothérapie active non spécifique par le BCG de la leucémie virale E W G 2 chez des receveurs isogéniques. *Rev. franç, études clin. biol.*, 1967, 12, 912—916.

AMIEL J. L.: Study of the leukocyte phenotypes in Hodgkin's disease, in Histocompatibility testing, Munksgaard, Copenhague, 1967, 79—84.

AMIEL J. L.: Immunité et cancer. *Rev. prat.*, 1972, 22, 2247—2264.

AMIEL J. L., LITWIN J., BERARDET M.: Essai d'immunothérapie active non spécifique par Corynebacterium parvum formolé. *Rev. franç. études clin. biol.*, 1969, 14, 909—914.

AMOS D. B., HATTLER B. G., SHINGLETON W. W.: Prolonged survival of skin-grafts from cancer patients on normal recipients. *Lancet*, 1965, 1, 414—415.

ANASTASSIADES O. T., PRYCE D. M.: Immunological significance of the morphological changes in lymph nodes draining breast cancer. *Brit. J. Cancer*, 1965, 20, 239—248.

APFFEL C. A.: Non immunological host defences. *Cancer Res.*, 1976, 36, 1634—1640.

ASCHOFF L.: Das retikulo-endothelial System. *Ergebn. inn. Med. Kinderheilkund.* 1924, 26, 1—118.

Scanned with OKEN Scanner

CHIRICUȚĂ I., SIMU G., OLINICI C.: Spre o concepție unitară a etiopatogenezei cancerului. *Oncol. și Radiol.*, 1967, 6, 195—203.
CHIRICUȚĂ I., TODORUȚIU C., GALATÎR N.: Participarea sistemului reticulo-histiocitar în procesul de metastazare experimentală. *Morf. Norm. Pat.*, 1969, 14, 35—41.
CHIRICUȚĂ I., SIMU G., TOMA V.: Thymus involution in tumourbearing hosts: mechanisms and possible significance. *Arch. Geschwulstforsch*, 1970, 35, 6—12.
CHIRICUȚĂ I., BOLOGA S., BUCUR M., MUNTEANU S.: Depistarea precoce în masă și aprecierea puseului evolutiv în cancerul de sîn prin termoviziune. *Oncol. și Radiol.*, 1971, 10, 57—62.
CHIRICUȚĂ I., MUREȘIAN T., TODORUȚIU C., RIȘCA R., MULEA R.: Problema vaccinului anticanceros. Nota I. Posibilitatea creșterii antigenicității carcinomului Ehrlich prin introducerea virusului Coxsackie B_2. *Oncol. și Radiol.*, 1971, 10, 9—14.
CHIRICUȚĂ I., MUREȘIAN T., SIMU G., IONESCU D., TODORUȚIU C.: Modificări imunologice în organisme cu tumori maligne. *Oncol. și Radiol.*, 1971, 10, 233—244.
CHIRICUȚĂ I., TODORUȚI C., MUREȘIAN T., RIȘCA R.: Participarea sistemului reticulohistiocitar în procesul de metastazare experimentală. *Oncol. și Radiol.*, 1971, 10, 245—252.
CHIRICUȚĂ I., IONESCU D., MUREȘIAN T.: Valoarea imunoelectroforezei serice în aprecierea iminenței de metastazare în cancerul de sîn. *Oncol. și Radiol.*, 1971, 10, 393—398.
CHIRICUȚĂ I., IONESCU D., MUREȘIAN T.: Possibilités for estimating the appearance of distant metastases in mammary cancer by immunoglobulin G assay. *Arch. Geschwulstforsch*, 1972, 40, 159—164.
CHIRICUȚĂ I., TODORUȚIU C., MUREȘIAN T., MULEA R.: L'évolution de la production d'anticorps dans les cultures de ganglions lymphatiques des rats porteurs de greffe tumorale. *Rev. Roum. Embryol. Cytol.*, série Cytol., 1972, 9, 167—172.
CHIRICUȚĂ I., TODORUȚIU C., MUREȘIAN T., RIȘCA R.: Prophilaxis of metastases formation by unspecific immunologic stimulation associated with heparinotherapy. *Cancer*, 1973, 31, 1392—1396.
CHIRICUȚĂ I., CRIȘAN M.: Grafting of lymph and hematologic organs (thymus, spleen, liver, bone marrow) from human foetus. A method of treatment in Hodgkin's disease. Zilele medicale Cluj, 1974, 270.
CHIRICUȚĂ I., TODORUȚIU C., MUREȘIAN T., RIȘCA R.: The experimental bases of the prevention of metastases in the operated breast cancer. Zilele medicale Cluj, 1974, 83.
CHIRICUȚĂ I., TODORUȚIU C., MULEA R., MUREȘIANU T., RIȘCA R.: Răspunsul imunologic al ganglionilor axilari față de tumoarea canceroasă mamară umană (studiu *in vitro*, în cultură de organ). Al II-lea Congres național de oncologie, București, 1975.
COMAN N.: Acțiunea defavorabilă a radioterapiei sau citostaticelor în unele cazuri de cancer pulmonar, 1972, comunicare personală.
CONTESSO G., ROUESSÉ J., GENIN J.: L'envahissement ganglionnaire loco-régional des cancers du sein. *Bull. Cancer*, 1975, 62, 359—372.
COOPER M. D., LAWTON III A. R.: The development of the immune system. Scientific American, 1974, 231, 59—72.
COPPLESON M., REID B.: Preclinical carcinoma of the cervix uteri. Pergamon Press, Oxford, 1967.
COSTĂCHEL O., IOSUB A., GUȚULESCU N., MOGOȘ I., LICIU F.: Experiența Institutului Oncologic București în tratamentul imunologic și chimio-imunologic al stadiilor avansate ale cancerului. *Oncol și Radiol.*, 1970, 9, 253—275.

Scanned with OKEN Scanner

WHITEHEAD R. H., THATCHER J., TEASDALE C., ROBERTS G. P., HUGHES L. E.: T and B lymphocytes in breast cancer stage relationship and abrogation of T-lymphocyte depression by enzyme treatment *in vitro*. *Lancet*, 1976, I, 330—333.
WHITTAKER G. G., REES K., CLARK C. G.: Reduced lymphocyte transformation in breast cancer. *Lancet*, 1971, I, 892—893.
WILLIS R. A.: Pathology of tumours. Butterworths, London, 1967.
WILSON, citat de BELL P. R. F., 1972.
WINZLER R. J.: Plasma proteins in cancer. *Adv. Cancer Res.*, 1953, 1, 503—548.
WITZ I. P., HARNESS M. A., PIKOVSKI M. A.: Suppressed plaque and rosette-formation by spleen cells of mice injected with tumor extract. IVth International Conference on lymphatic tissue. Dubrovnik, 1972, 1.
WOLBERG W. H.: Inhibition of migration of human autogenous and allogeneic leukocytes by extracts of patient's cancers. *Cancer Res.*, 1971, 31, 798—802.
WOODRUFF M. F. A.: Immunological aspects of cancer. *Lancet*, 1964, II, 265—270.

YEH J., AHMED M., MAYASI S. A.: Direction of an antigen related to Mason-Pfizer virus in malignant human breast tumors. *Science*, 1975, 190, 583—584.

ZBAR B., TANAKA T.: Immunotherapy of cancer: Regression of tumor after intralesional injection of living Mycobacterium bovis. *Science*, 1971, 172, 271—273.
ZILBER L. A.: Specific tumor antigens. Advances in Cancer Res., Academic Press, New York, 1958.
ZILBER L. A.: Some aspects of antitumour immunity. *Neoplasma*, 1959, 6, 337—346.
ZILBER L. A.: Sur l'étiologie virusale du cancer. *Méd. et Hyg.*, 1963, 180, 65—66.
ZUR HAUSEN H.: Condylomata acuminata and human genital cancer. *Cancer Res.*, 1976, 36, 559—869.

Scanned with OKEN Scanner

Redactor de carte: Dr. MARIANA BERBECEANU
Tehnoredactor: ELENA AFILIPOAIE

Bun de tipar: 14.VI.1978. Formatul 16/61×86. Hîrtie: Tipar înalt ilustrații 61×76/41,97. Coli de tipar: 18,50, Tiraj: 7 750 exemp. + 80 exemp. S.P.-uri + 100 exemp. expoziție

Tiparul executat la întreprinderea poligrafică Sibiu

Scanned with OKEN Scanner